



УДК 633.11:[581.823+581.824]+578.686

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ТКАНЕЙ КОЛЕОПТИЛЯ И ЭПИКОТИЛЯ

М.Ю. Касаткин, С.А. Степанов, Д.А. Хакалова

Саратовский государственный университет,
кафедра микробиологии и физиологии растений
E-mail: StepanovSA@info.sgu.ru

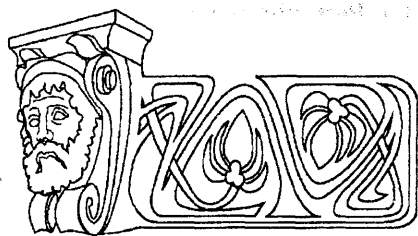
Цитофотометрическим методом исследовались спектральные характеристики coleoptiles и epicotyles пшеницы. В coleoptile и epicotyle обнаружено присутствие нескольких различных пигментных систем, не перекрывающихся по своим спектральным характеристикам. Coleoptile в условиях темноты имеет максимальное светопроведение, являясь оптическим фильтром в условиях освещения. Epicotyle, в отличие от coleoptile, в условиях темноты повышает чувствительность к свету, увеличивая свою оптическую плотность.

A Comparative Analysis of Spectral Properties of Coleoptil and Epicotyl Tissues

M.Yu. Kasatkin, S.A. Stepanov, D.A. Khackalova

Spectral properties of coleoptiles and epicotyles of wheat was investigated by cytophotometry. In this organs where found several different photosystems, that have no common absorption spectral areas. Coleoptil in dark growth have the largest lightpiping. Growth in light environment make coleoptil as optical filter. Epicotyl in dark growth have increase its own light sensitivity by rising in optical density.

Оптические свойства растения определяются двумя составляющими: содержанием пигментов и структурными особенностями тканей [1]. Если последняя характеристика вносит относительно стабильный вклад в поглощение и отражение света в онтогенезе растения и обусловлена, в первую очередь, его морфологией, то состав и распределение пигментов в органах подвержено значительной изменчивости и зависит от возраста растения и условий внешней среды. Благодаря этому оптические параметры растительного организма получают возможность адаптивно подстраиваться с малым временем отклика к меняющимся условиям. Считается, что выделение, идентификация и характеристика пигментов с применением современных методов не представляют особой сложности. Гораздо более трудной является регистрация изменений спектральных характеристик пигментов в результате взаимодействия их молекул с ближайшим микроокружением в клетке [2]. Определение спектра поглощения види-



мой части света тканями, т.е. их спектральной характеристики *in vivo*, представляет интерес с целью идентификации механизмов, регулирующих гомеостаз клеток, тканей и органов растения.

Материалы и методы

Исследования проводились на кафедре микробиологии и физиологии растений Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского. Объектом изучения являлись мягкая пшеница *Tr. aestivum*, жизненная форма яровая, сорт Саратовская 29.

Семена проращивались в лабораторных условиях на поверхности почвы и с глубиной заделки семян 6 см по вариантам опыта – абсолютная темнота и свет. Источником света служила лампа накаливания WLS-400W, абсолютная темнота достигалась помещением проростков в камеру из фотобумаги.

Исследование спектральных характеристик проводили согласно методики для цитофотометрических исследований [3]. Источником света служила галогеновая лампа накаливания мощностью 75 Вт. Пучок света большой степени монохроматичности (± 2 нм) подавался на микроскоп МББ-1А. Для получения света с узкой длиной волны использовался монохроматор спектрофотометра SPEKOL 11. Системой диафрагм микроскопа и его конденсором пучок света, непосредственно освещающий препарат, центрировался относительно входного отверстия объектива. Визуальный контроль за перемещением препарата и регистрация прошедшего света осуществлялись с помощью бинокулярной насадки АУ-26 для микроскопа. Регистрация интенсивности света, прошедшего через препарат, производилась с помощью специального переходника. Отсчёт интенсивности



света проводился по величине фототока на микроамперметре М93. Для увеличения чувствительности метода и уменьшения ошибок эксперимента после нахождения и установки нужного участка препарата второй окуляр насадки закрывался светонепроницаемым колпачком. Для более точной дифференциации оптических свойств различных тканей проростка нами было внесено усовершенствование в стандартную цитофотометрическую установку – между фоточувствительной поверхностью ФЭУ и выходным отверстием окуляра помещалась изменяемая ирисовая диафрагма. Видимая область на препарате, ограниченная отверстием диафрагмы, юстировалась и контролировалась во время эксперимента линейкой во втором окуляре насадки.

Результаты работы и их обсуждение

Ранее было показано [4], что изменение оптических характеристик тканей колеоптиля определяет создание светового градиента в продольном направлении проростка, позволяющего в условиях освещенности осуществлять фотоморфогенез. Выявлена связь между ростом элементов зародышевых метамеров в главной почке проростка с изменением спектральных свойств колеоптиля на свету и в темноте [4].

Наличие сходных по спектральным свойствам оптических характеристик тканей

колеоптиля, выращенных на свету и в темноте, указывает на особую значимость в росте и фотосинтезе желтых пигментов. Колеоптиль прекращает рост на свету, сохраняя функцию светопроводимости, и обеспечивает возможность поступления света того спектрального состава, которое соответствует ростовым реакциям (400–500 нм и 740 нм) и фотосинтезу (430, 450, 680 нм). В полной темноте активируются ростовые реакции участков колеоптиля и существенно ингибируется формирование листьев проростка. Различие спектральных характеристик от верхушки к основанию колеоптиля указывает на наличие в нем нескольких зон – восприятия, проведения и реализации светового сигнала.

Сравнение спектральных характеристик эпикотили и колеоптиля, проведенное нами в разных условиях выращивания – наличие или отсутствие света, указывает на функционирование в этих органах различных фотосистем.

На свету при поверхностном прорастании (рис. 1) в эпикотиле отмечается наличие максимумов поглощения в синей области спектра при 410, 450 и 480 нм, что указывает на содержание в нем сенсорных пигментов – фототропина и одной из форм криптохрома. Колеоптили проростков в этих условиях обнаруживают присутствие пигментов фотосинтетического аппарата – хлорофиллов. Об этом свидетельствует наличие характерных

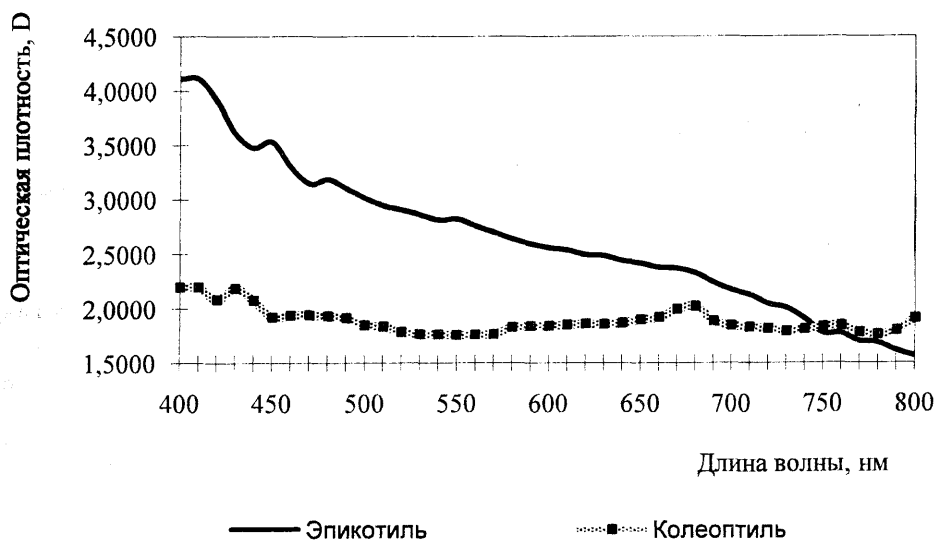


Рис. 1. Спектральные характеристики тканей колеоптиля и эпикотили при прорастании на свету на поверхности почвы через 10 сут от посева



максимумов поглощения при 430 и 680 нм. Следует отметить, что области поглощения фотосистем эпикотиля и колеоптиля не перекрываются между собой по спектральным характеристикам: максимуму поглощения эпикотиля при 450 нм соответствует хорошо заметный минимум поглощения колеоптиля в этом участке спектра и, наоборот, в области 430 нм отмечен минимум поглощения света эпикотилем и максимум – колеоптилем. В участке спектра с длинами волн более 750 нм различия в оптических свойствах колеоптиля и эпикотиля не отмечались, поскольку данная область не является физиологически значимой для растений [5].

Полученные результаты свидетельствуют, по нашему мнению, о том, что распределение спектров поглощения пигментными системами должно подчиняться правилу комплиментарной хроматической адаптации, установленному для одноклеточных и многоклеточных водорослей [6]. В этом случае интерпретация полученных нами результатов позволяет расширить область использования данного термина не только при характеристике оптических свойств растительных сообществ, но и при исследовании особенностей осевого распределения различных фотосистем в растущих органах растения.

В условиях темноты при наземном проращении (рис. 2) эпикотиль обнаруживает присутствие тех же пигментов в синей об-

ласти спектра, что и на свету, о чём свидетельствует сохранение максимумов поглощения при 410 и 450 нм. Установленному максимуму поглощения на свету при 480 нм в условиях темноты, по-видимому, соответствует максимум поглощения 490 нм. В тканях колеоптиля при отсутствии света появляется ещё один слабовыраженный пик поглощения при 640 нм, который, возможно, связан с фитохромной системой проростка [7]. Исследование спектральных характеристик тканей колеоптиля в этих условиях показало отсутствие какого-либо поглощения в видимой области спектра.

При отсутствии света (рис. 2) оптическая плотность тканей колеоптиля для всех участков спектра света была одинаковой и составляла 1,0. Для эпикотиля средняя оптическая плотность составляла примерно 4,5. Это свидетельствует о том, что в темноте колеоптиль выполняет функцию светопроведения, тогда как в эпикотиле возрастает чувствительность тканей к световому фактору за счёт увеличения концентрации пигментов в синей области спектра (оптическая плотность на свету при 450 нм 3,53, в темноте – 4,69 соответственно), что способствует выполнению им функции приемника светового потока. Оптическая плотность колеоптиля на свету была в два раза выше, чем в темноте, что свидетельствует об оптической стабилизации светового потока колеоптилем в условиях освещения.

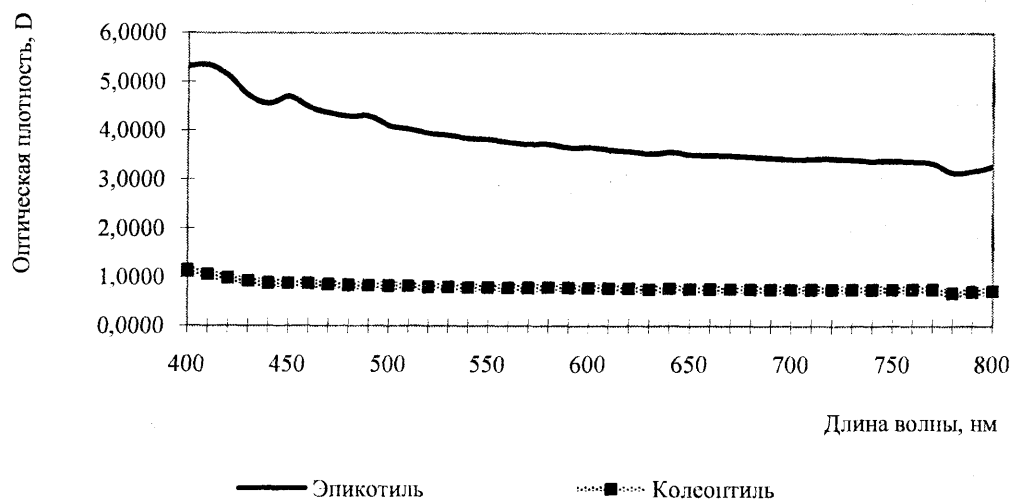


Рис. 2. Спектральные характеристики тканей колеоптиля и эпикотиля при проращении в темноте на поверхности почвы через 10 сут от посева



При подземном прорастании в условиях освещения обнаруживается различие в оптических свойствах отдельных участков эпикотилия (рис. 3). В верхней части эпикотилия отмечено присутствие пигментов, поглощающих в синей (при 410, 430, 470, 490 нм) и красной областях спектра (при 675 нм). Наличие слабовыраженных максимумов поглощения при 430 и 675 нм указывает на синтез в этом органе хлорофиллов. В основании эпикотилия обнаружен только один четко выраженный максимум при 420 нм. В то же время верхушка эпикотилия обладает повышенной пропускной способностью в этой области спектра, что, по нашему мнению, приводит к созданию наилучшего осевого светового градиента в данном органе.

Сравнение оптических плотностей эпикотилия и колеоптиля при наземном и подземном прорастании на свету показывает, что при прорастании семян в почве оптическая плотность указанных органов в среднем в два раза меньше, чем при прорастании на поверхности почвы. Данный факт свидетельствует об активности ростовых процессов эпикотилия и колеоптиля в данных условиях [8].

При прорастании в почве в условиях темноты (рис. 4) отмечены сходные показатели спектральных характеристик и оптической плотности тканей исследуемых органов в сравнении с выращенными при освещении в почве. Различия касались только отсутствия хлорофиллов в обоих органах. В эпикотиле обнаружены максимумы поглощения при 440 и 740 нм, что может доказывать значимость сенсорных пигментов криптохрома и фитохрома на начальных этапах органогенеза [5]. Колеоптиль также обнаруживает слабо выраженный максимум поглощения в синей области спектра (440 нм).

Оптическая плотность колеоптиля при заделке семян в почву в условиях темноты практически не отличается от таковой при прорастании на поверхности в тех же условиях. Наоборот, эпикотиль обнаруживает снижение оптической плотности более чем в 2 раза в данных вариантах опыта.

Таким образом, в колеоптиле и эпикотиле обнаружено присутствие нескольких различных сенсорных и фотосинтетических пигментных систем. В условиях освещения колеоптиль является оптическим фильтром, поглощающим большую часть светового по-

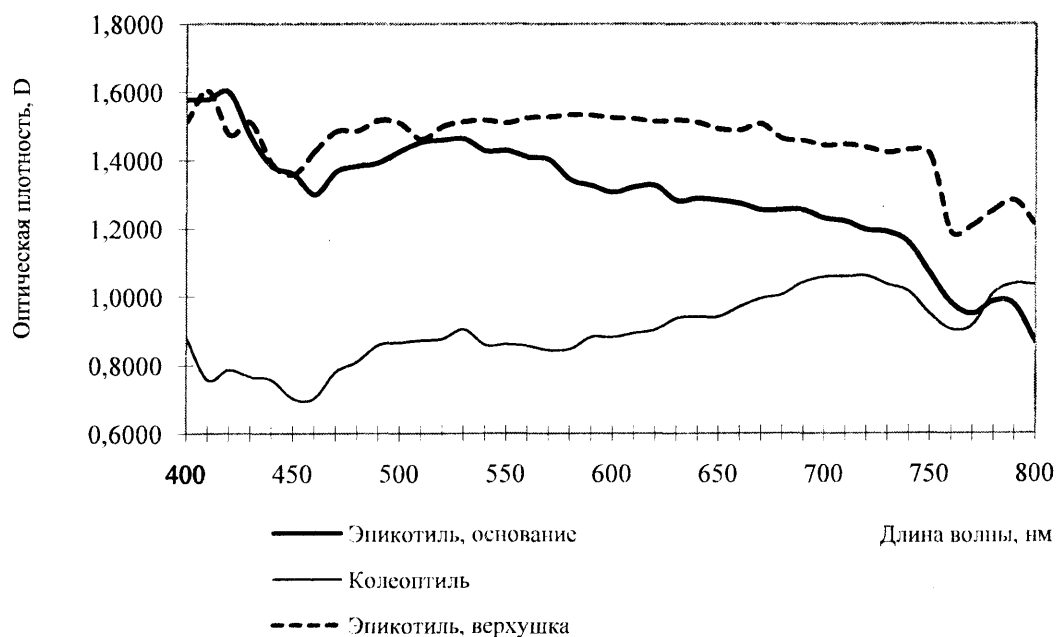


Рис. 3. Спектральные характеристики тканей колеоптиля и эпикотилия при прорастании на свету с глубиной заделки 6 см через 10 сут от посева

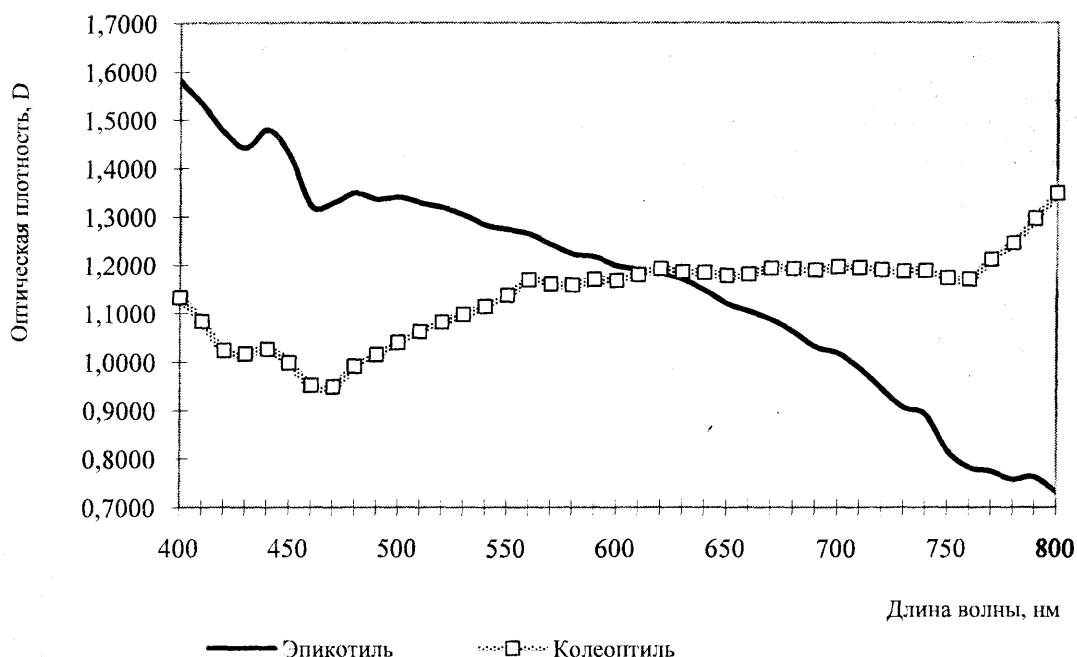


Рис. 4. Спектральные характеристики тканей колеоптиля и эпикотили при прорастании в темноте с глубиной заделки 6 см через 10 сут от посева

тока и в конечном итоге стабилизирующим освещённость участков проростка, где происходят различные морфогенетические процессы. В условиях темноты, напротив, колеоптиль «настроен» на максимальное светопроведение. Эпикотиль содержит пигменты, идентифицированные нами как принадлежащие к сенсорной группе – криптохромом и фитохромом.

Библиографический список

1. Vogelmann T.C. Plant tissue optics // *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 1993. Vol.44. P.231–251.
2. Fukshansky L., Martinez von Remisowsky A. A theoretical study of the light microenvironment in a leaf in relation to photosynthesis // *Plant Sci.* 1992. Vol.86. P.167–182.
3. Безрукова А.Г., Владимирская И.К. Информативность параметров светорассеяния при исследовании клеток // *Цитология.* 1982. Т.XXIV, №5. С.507–521.
4. Касаткин М.Ю., Быховцев В.Г. Оптические свойства колеоптиля пшеницы // *Бюл. Ботанического сада Саратов. гос. ун-та.* Саратов: Научная книга, 2003. Вып.2. С.284–290.
5. Briggs W.R., Olney M.A. Photoreceptors in plant photomorphogenesis to date. Five phytochromes, two cryptochromes, one phototropin, and one superchrome // *Plant Physiol.* 2001. Vol.125. P.85–88.
6. Брандт А.Б., Тазеева С.В. Оптические параметры растительных организмов. М.: Наука, 1967. 302 с.
7. Correll D.L., Edwards J.L., Medina V.J. Phytochrome in etiolated annual rye. II. Distribution of photoreversible phytochrome in the coleoptile and primary leaf // *Planta.* 1968. Vol.79. P.284–291.
8. Касаткин М.Ю., Степанов С.А., Быховцев Б.Г. Влияние света на рост колеоптиля и эпикотили проростков пшеницы // *Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения:* Сб. науч. ст. Саратов, 2005. Вып.8. С.121–123.