

Р. С. БАБАЯН

О ПОВЫШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ СЕМЯН ВСЛЕДСТВИЕ ТЕРМИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Повышение устойчивости растительных организмов, в частности семян, к различным повреждающим агентам имеет большое значение в научном и практическом аспектах. Этот вопрос представляет также определенный интерес для экспериментального мутагенеза. Известно, что физиологическая устойчивость организмов, в том числе семян, ограничивает применение сравнительно высоких доз мутагенов. Имеется ряд данных, свидетельствующих о возможности разграничения повреждающего (в физиологическом смысле) и мутагенного эффектов мутагенов (Конзак и др., 1961; Хвостова и др., 1965; Бабаян, 1968 и другие). Выявление, а тем более использование в селекционных и других целях точковых мутаций непременно предполагает выживание и плодоношение мутантных особей.

Неспецифичное повышение устойчивости клеток к различным повреждающим агентам под влиянием супероптимальных температур установлено работами В. Я. Александрова и других (Александров и Фельдман, 1958; Александров, 1963; Александров, 1964; Лютова, 1958; Ломагин, 1964 и др.).

Исследования в этом направлении проведены в основном на активно метаболизирующих организмах и клетках. Значительный интерес представляет исследование этого вопроса на семенах, в которых интенсивность метаболизма очень низка, что сведет к минимуму его влияние на процессы реактивации.

Известно, что супероптимальные термические воздействия вызывают повышение радиоустойчивости семян (Смит, Калдекотт, 1948; Шаширо, Протопопова, 1964; Бабаян, 1965; Николов, Иванов, 1968 и др.). Механизм этого явления до сих пор недостаточно ясен.

Настоящее исследование проводилось в плане изучения совместного влияния супероптимальных температур и мутагенных агентов на семена.

Объектом опытов являлись воздушно-сухие и замоченные (и наклюнувшие) семена пшеницы и ячменя. Термическому воздействию семена подвергались в водяном ультратермостате (точность заданной температуры $\pm 0,2^\circ\text{C}$). Сухие семена подвергались нагреву в воздушной среде (воздушная камера термостата), замоченные семена — в воде, предварительно нагретой до заданной температуры. Облучение проводилось аппаратом РУМ-11, при 180 кВ, 18 мА, без фильтра, мощность дозы 450—500 р/минут. Из других агентов применялись: этиленмин—0,03% (объемный) водный раствор, хлорэтиленмин-оксалат—0,1% раствор, гидроксилмин (сернистая соль)—0,5% раствор, этиловый спирт—50% раствор, ацетон (пары и 20% раствор). Действию указанных агентов семена подвергались сразу же после нагрева. Показателями устойчивости служили прорастаемость семян, интенсивность роста, выживаемость.

мость растений, количество aberrаций хромосом в меристемных клетках. Семена проращивались в комнатных условиях при 20—22°C в чашках Петри, на фильтровальной бумаге.

В радиобиологической литературе приводится много данных о защитном действии кратковременных супероптимальных нагревов при облучении семян гамма- и рентгеновскими лучами. По существу это индуцированное нагревом реактивное повышение устойчивости к ионизирующим излучениям.

Результаты наших опытов тоже показывают, что устойчивость сухих и замоченных семян значительно повышается вследствие предшествующего облучению нагрева.

Таблица 1

Защитное действие нагрева при облучении сухих семян пшеницы (Арташати 42 20 кр)

Варианты	Длина ростков (10-дневных)	Общая длина корешков (10-дневных)	% проросших семян	% выживших растений
Контроль	16.7±0.5	59.3±1.8	78.0	69.0
Облучение	12.4±0.5	27.2±1.6	59.0	41.5
Теплообработка 60°C, 30 минут + облучение	15.4±0.3	37.5±2.2	69.0	50.0
Теплообработка 70°C, 30 минут + облучение	14.9±0.5	53.2±1.8	73.0	77.0

Как видно из приведенных данных, семена, подвергнутые тепловому шоку непосредственно перед облучением, поражаются меньше, вследствие чего показатели начального роста и выживаемости растений из этих семян значительно выше. Сходная картина наблюдается у наклюнувшихся семян.

Таблица 2

Защитное действие нагрева при облучении замоченных семян пшеницы (7-дневные растения, 1,5 кр)

Варианты	Сорт Эрминеум		Сорт Эритролеукоп-12	
	длина ростков	длина корешков	длина ростков	длина корешков
Контроль	7.2±0.3	6.9±0.2	—	—
Облучение	2.8±0.2	1.5±0.1	12.6±1.0	8.4±0.7
Теплообработка 45°C, 10 минут	4.1±0.2	2.2±0.1	16.8±0.4	13.6±0.3
Теплообработка 50°C, 10 минут	5.2±0.2	3.3±0.1	16.3±0.4	13.7±0.4

Количество aberrантных клеток учитывалось в меристемах корешков у пшеницы через 48 ч., у гороха—через 72 ч. после посева.

Приведенные в табл. 3 данные показывают, что у сухих семян пшеницы и гороха благодаря тепловому шоку количество клеток с aberrациями хромосом, вызванными облучением, снижается более чем вдвое.

Таблица 2

Выход aberrаций хромосом при совместном воздействии на кукурузные семена теплового шока (80°C, 30 мин.) и рентгенооблучения

Варианты	% клеток с aberrациями хромосом	
	пшеница (15 кр)	горох (10 кр)
Контроль	—	1.8±0.5
Теплообработка	1.6±0.5	2.9±0.5
Облучение	73.5±1.6	18.9±1.5
Теплообработка+облучение	47.2±1.4	8.3±1.1

Приведенные в табл. 1—4 данные свидетельствуют о том, что предшествующий рентгенооблучению нагрев семян оказывает значительное защитное действие по многим показателям, повышает радиоустойчивость семян.

Таблица 4

Влияние нагрева сухих семян ячменя (80°C, 30 минут) на эффект рентгенооблучения (15 кр) в %

Варианты	Проросшие	Созревшие	Стерильность
Контроль	78.8±1.7	62.0±1.7	7.7±0.5
Теплообработка	74.3±1.8	55.0±2.0	8.0±0.5
Облучение	47.0±2.0	40.3±2.0	36.9±0.9
Теплообработка+облучение	62.0±1.7	50.3±1.8	28.6±0.7

Исследованиями Насонова, Александрова (1940, 1963) и других на растительных и животных клетках показано, что реакция клеток на повреждающие агенты во многом сходна. Повреждающие агенты различной природы вызывают в основном одинаковые субстанциональные, физиологические изменения в клетках. В основе этих изменений лежат денатурационные, конформационные изменения белков (паранекроз). Реактивное повышение устойчивости клеток к различным повреждающим агентам вследствие термического воздействия в широком диапазоне также имеет неспецифичный характер. Такая реакция клеток с точки зрения денатурационной теории не является неожиданной, наоборот, вытекает из ее положений и подтверждает правильность этой теории (Александров, 1963).

Исходя из этих положений, интересно было в отношении сухих семян выяснить вопрос: имеет ли место тот же механизм неспецифического повышения устойчивости или в данном случае он носит специфичный характер, связанный только с особенностями повреждающего действия ионизирующих излучений. Известно, что у сухих семян клетки находятся в глубоком покое, имеют предельно низкий уровень метаболизма.

Некоторые опыты, проведенные ранее, и наблюдения говорят о том, что повышение радиоустойчивости семян вследствие предшествующего облучению рентгеновскими лучами нагрева не имеет специфичного характера (Бабаян, 1966). Для более детального изучения этого вопроса проведены опыты тепловой реактивации семян с применением, помимо рентгенооблучения, ряда других повреждающих агентов.

С этой целью контрольные и предварительно подвергнутые термическому воздействию семена подвергались действию примененных агентов.

Таблица 5

Влияние нагрева наклюнувших семян пшеницы на устойчивость к этанолу (50% водный раствор)

Варианты	Количество проросших семян в % (от контрольных) при продолжительности замачивания в растворе (в минутах)			
	0	3	5	7
Без теплообработки	100	86,6	73	62,1
Теплообработка 40°C, 5 минут	100	107,4	117,5	99,3
Теплообработка 50°C, 5 минут	100	184,7	221,6	139,5

Как видно из данных табл. 5, устойчивость семян пшеницы к повреждающему действию этанола, судя по прорастаемости, повышается больше чем вдвое.

Такая же картина наблюдается при воздействии на семена парами и раствором (20% водный раствор) ацетона. При воздействии парами семена ставились в эксикатор с ацетоном. Воздух в эксикаторе разрежался до 0,4—0,5 атм.

Таблица 6

Влияние нагрева сухих семян пшеницы (сорт Арташати 42) на повреждающее действие ацетона

Температура нагрева семян, мин	% проросших семян	
	пары (8 дней)	раствор (20 %, 15 минут)
Контроль	22,6	34,2
50°C, 30	44,3	43,4
60°C, 30	36,7	89,1
70°C, 30	46,4	79,5
80°C, 30	20,8	69,3

Реактивное повышение устойчивости под влиянием нагрева семян непосредственно перед замачиванием в растворах наблюдается и в отношении ряда химических мутагенов, которые являются сильно повреждающими агентами (табл. 7).

Приведенные данные опытов показывают, что у семян тоже происходит реактивное повышение устойчивости вследствие воздействий супероптимальных температур. Степень изменения устойчивости в значительной мере зависит от природы повреждающих агентов, но достоверно проявляется при всех испытанных агентах. Это показывает, что указанное явление у семян носит в широком диапазоне неспецифичный характер.

Значительный интерес представляет тот факт, что «тепловая закалка» при действии супероптимальных температур происходит как у наклюнувших, так и у сухих семян. Это, на наш взгляд, важно для выяснения сущности реактивного повышения устойчивости при термических воздействиях.

В. Я. Александров (1963, 1964) предполагает следующие возможные причины реактивного повышения устойчивости вследствие супероптимальных нагревов: 1—усиление процессов, ведущих к восстановлению повреждений, 2—увеличение концентрации вещества, обладающих ан-

Таблица 7

Влияние нагрева сухих семян пшеницы и ячменя на устойчивость к рентгенооблучению, этиленмину (ЭИ), хлорэтиленмин-оксалату (ХЭИ) и гидроксилмину (ГА, сернокислая соль)

Варианты	% проросших	% созревших растений	
		от посеянных семян	от проросших
Пшеница Эриндзем, 70°C, 30 минут			
Облучение 30 кр	—	—	—
Теплообработка+облучение 30 кр	14.7	8.7	59.1
ХЭИ, 1%, 24 часа	—	—	—
Теплообработка+ХЭИ	15.3	15.3	100.0
ГА, 0.5%, 24 часа	58.7	56.0	95.5
Теплообработка+ГА	86.7	78.7	90.8
Ячмень Нутанс 213, 80°C, 30 минут			
ЭИ, 0.03%, 24 часа	—	—	—
Теплообработка+ЭИ	49.7	26.7	53.7
	57.8	48.7	84.1

тиденатурирующим свойством, 3—конформационные изменения белковых молекул, повышающие их прочность.

У сухих семян интенсивность метаболизма предельно низка, поэтому можно полагать, что его влияние на реактивное повышение устойчивости не может быть существенным. Более вероятно в отношении семян, отмеченных В. Я. Александровым, третья причина повышения устойчивости. На это указывает также отмеченный выше факт о том, что повышение устойчивости, вследствие супероптимальных нагревов, происходит как у сухих, так и у наклюнувшихся семян, сильно отличающихся по интенсивности метаболизма. В литературе имеется ряд данных, свидетельствующих в пользу такого предположения. А. С. Цыперович (1959) явление «денатурационной стабилизации» глобулярных белков объясняет увеличением прочности водородных связей нативной части белка под влиянием продуктов денатурированной части.

Дж. Левит (1964), Я. Белерадек (1964) отмечают значение SH- и SS- групп белков для повышения их устойчивости. Известно, что под влиянием денатурирующих агентов, в частности высокой температуры, в белках увеличивается количество реакционноспособных SH-, SS- и др. активных групп (Пунтам, 1956; Жоли, 1968 и др.).

И. М. Спектор (1967) установил, что малые концентрации денатурирующих веществ оказывают стабилизирующее действие на сывороточные белки. В другой работе (1967) он показал, что аналогичное влияние оказывает повышенная температура. Это явление автор объясняет, исходя из механизма, предложенного Цыперович (1959).

Вышеизложенное дает основание предполагать, что реактивное повышение устойчивости семян к рентгенооблучению и другим повреждающим агентам обусловлено подобным механизмом.

Приношу глубокую благодарность профессору В. Я. Александрову за ценные замечания при подготовке статьи к опубликованию.

ՋԵՐՄԱՄՇԱԿՄԱՆ ՇՆՈՐՀԻՎ ՍԵՐՄԵՐԻ ԳԻՄՆԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ԲԱՐՁՐԱՑՄԱՆ
ԽՈՒՄԸ

Ա Վ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Յոթենի և դարու սերմերը կարճատև (30 րոպե) բարձր ջերմության ազդեցության ենթարկելու շնորհիվ (70—80° Ց) բարձրանում է նրանց դիմացկունությունը իոնացնող ճառագայթաճարման նկատմամբ:

Փորձեր են կատարվել ստուգելու այն ենթադրությունը, որ իոնացնող ճառագայթաճարման նկատմամբ սերմերի դիմացկունության բարձրացումը ճանդիսանում է ջերմության ազդեցությամբ դիմացկունության սեակաիվ բարձրացման դրսևորման մասնավոր դեպք:

Ելյո նպատակով, ջերմային ազդեցության ենթարկելուց հետո, սերմերը ենթարկվել են տարբեր զործոնների ազդեցության (էթիլենիմին, հիդրօքսիլամին, սպիրտ, ացետոն և այլն):

Ըստ ստացված տվյալների, ջերմամշակման շնորհիվ բարձրանում է սերմերի դիմացկունությունը այդ զործոնների նկատմամբ ևս:

Հետևություն է արվում, որ ջերմամշակման շնորհիվ բարձրանում է սերմերի ընդհանուր դիմացկունությունը, որը չունի սպեցիֆիկ բնույթ:

Ստացված տվյալների հիման վրա հավանական է համարվում դիմացկունության ոչ սպեցիֆիկ բարձրացումը ջերմամշակման շնորհիվ բացառել որպես սպիտակուցների կոնֆորմացիոն փոփոխությունների հետևանք:

R. S. BABAYAN

CONCERNING THE INCREASE OF THE STABILITY OF SEEDS BY
MEANS OF THE THERMAL TREATMENT

S u m m a r y

When seeds of wheat and barley plants undergo a short-term (up to 30 minutes) high thermal treatment (70—80°C) their stability increases in relation to the ionizing irradiation.

Experiments were carried out to check up the supposed increase in the stability of seeds in relation to the ionizing irradiation which is a special case in showing the reactive increase of stability under the effect of heating.

To make it sure, the seeds after being undergone the thermal treatment, were also effected by some different factors (ethylenamine, hydroxylamine, alcohol, acetone, etc.).

The data obtained show that the stability of seeds increases by means of the thermal treatment even under those factors, too.

Thus, it might be concluded that seeds with thermal treatment increase their over-all stability without having any specific nature which might probably be the result of conformation changes of proteins.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В. Я. и Фельдман Н. Л. Бот. журнал, т. 43, № 2, 1958.
2. Александров В. Я. Труды Бот. института АН СССР, сер. 4, 16, 1963.
3. Александров В. Я. В сб.: «Клетка и температура среды», М.—Л., 1964.
4. Бабалян Р. С. ДАН. Арм. ССР, т. 41, № 2, 1965.
5. Бабалян Р. С. Известия с.-х. наук МСХ Арм. ССР, № 7, 1966.
6. Бабалян Р. С. Генетика, № 10, 1968.
7. Бабалян Р. С., Айрапетян Р. Б. Тезисы докладов симпозиума: «Применение экспериментальных мутаций в селекции растений», Киев, 1968.
8. Белерадек Я. В сб.: «Клетка и температура среды», М.—Л., 1964.
9. Библия Р. Цитологические основы экологии растений, М., 1965.
10. Жолн М. Физическая химия денатурации белков, М., 1968.
11. Кислюк И. М. Бот. журнал, т. 47, № 5, 1962.
12. Левит Дж. В сб.: «Клетка и температура среды», М.—Л., 1964.
13. Ломагин А. Г., Антропова Т. А., Иамете А. Цитология, т. 5, № 2, 1963.
14. Ломагин А. Г. ДАН СССР, 157, № 6, 1964.
15. Лютова М. И. Бот. журнал, т. 43, № 2, 1958.
16. Насонов Д. Н. и Александров В. Я. Реакция живого вещества на внешние воздействия, М.—Л., 1940.
17. Николов Е. В., Иванов В. И. Радиобиология, т. 8, № 3, 1968.
18. Пунтам Ф. В кн.: «Белки», т. 2, М., 1956.
19. Спектор И. М. Цитология, т. 9, № 1, 1967.
20. Спектор И. М. Цитология, т. 9, № 2, 1967.
21. Фельдман Н. Л., Александров В. Я., Завадская И. Г., Кислюк И. М., Ломагин А. Г., Лютова М. И., Язгулов А. В сб.: «Клетка и температура среды», М.—Л., 1964.
22. Хвостова В. В., Эльшунн К. А. «Радиобиология», т. 5, № 1, 1965.
23. Цыперович А. С. Коллоидный журнал, т. 21, № 1, 1959.
24. Шапиро Н. И., Протопопова Е. М. «Радиобиология», т. 4, № 2, 1964.
25. Эльшунн К. А., Хвостова В. В., Столетов В. Н. Генетика, № 3, 1965.
26. Konzak F., Nilan R. A., Legault R. R., Heiner R. F. Proc. Simpos. Effects of Ionizing Radiations on Seeds, V. 1, Karlsruhe, IAEA, Vienna, 1961.
27. Smith L. Caldecott R. S. Hereditas, 39, 1948.