

На правах рукописи

Ю. А. Сердюков

СЕРДЮКОВ ЮРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**Действие слабого постоянного магнитного поля
на антиоксидантную систему проростков
редиса**

03.01.05 – Физиология и биохимия растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2013

Работа выполнена в группе магнитобиологии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, г. Москва.

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

Новицкий Юрий Иванович

доктор биологических наук

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

Носов Александр Владимирович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, лаборатория физиологии культивируемых клеток, ведущий научный сотрудник

Белова Наталья Александровна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики, лаборатория биофизики внутриклеточной регуляции, ведущий научный сотрудник

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Биологический факультет

Защита состоится 26 декабря 2013 г. в 11 часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 002.210.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, расположенном по адресу: 127276, Москва, ул. Ботаническая, 35. Факс: (499)977-80-18, e-mail: m-azarkovich@ippras.ru, ifr@ippras.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук.

Автореферат разослан «22» ноября 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,



канд. биол. наук.,

Азаркович Марина Ивановна

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. Известно, что за последние несколько веков напряженность геомагнитного поля (ГМП) постепенно снижается /Храмов и др. 1982/. Подобные падения, повышения, а также полные инверсии напряженности происходят уже не в первый раз за историю планеты. Однако до сих пор неизвестно, как влияют эти изменения на биосферу и непосредственно на живые организмы и, в частности, на растения; является ли измененное магнитное поле стрессовым фактором или нет.

В последнее десятилетие дополнительным стимулом к изучению действия электромагнитных полей на живые организмы является активное антропогенное вмешательство в электромагнитный фон в широком диапазоне — от 50 Гц в промышленных и бытовых сетях и электроприборах до гигагерцовых излучений, на которых основаны современные стандарты средств связи и коммуникации. Проблема предельно допустимого уровня (ПДУ) магнитных полей стоит как никогда остро, хотя определенные нормативы были и есть, как в нашей стране, так и зарубежом /Adams, Williams 1976/, вопрос об их соответствии современным реалиям остается открытым. Для человека установлен ПДУ (СанПиН 2.2.4.1191-03) — не более 10 минут нахождения в постоянном магнитном поле (ПМП) с индукцией 30 мТл или 480 минут в ПМП 10 мТл в течение рабочего дня. Превышение этого уровня влияет на физиологическое состояние и индивидуальные особенности организма /Холодов, Лебедева, 1992; Григорьев и др., 2005/.

Растения в популяции, как и другие организмы, различаются индивидуальной чувствительностью к изменению напряженности магнитного поля. Редис является культурой, чувствительность которой к слабым магнитным полям, даже столь малым, как геомагнитное, можно наблюдать визуально. Проявляется эта чувствительность в виде наличия двух независимых основных магнитоориентационных типов, ориентирующих корневые бороздки вдоль магнитного меридиана — северо-южный магнитоориентационный тип (СЮ МОТ) и поперек магнитного меридиана — западно-восточный магнитоориентационный тип (ЗВ МОТ) /Новицкий, Травкин, 1971/. Помимо разной реакции на МП, эти МОТ различаются по биохимическому составу и реакции на различные факторы окружающей среды /Новицкий и др., 1990/. Современные исследования показывают, что изменения магнитного поля влияют на биохимические и морфофизиологические процессы растений /Gallad, Pazur, 2005/, меняют их биохимический состав, при этом меняется не качественный состав веществ, а только их количественные соотношения /Новицкая и др., 2008; Новицкая и др., 2010а/. ПМП модифицирует действие таких факторов, как интенсивность освещения, длина дня, температурный режим, сезон. Модифицирующий характер действия слабого ПМП может выступать как опре-

деляющий ход онтогенеза фактор /Новицкий, 2009; Новицкий, 2010/. Кроме того, чувствительность растений к слабому полю зависит от состояния магнитосферы Земли /Крылов, 2012/. Все это свидетельствует о том, что слабое магнитное поле является для растений экологически значимым фактором.

Механизмы действия магнитного поля до настоящего времени окончательно не установлены. По одной из гипотез, магнитное поле затрагивает работу мембран растительной клетки, меняя соотношение входящих в их состав липидов через процессы их перекисного окисления. Однако, действие слабого ПМП на работу антиоксидантной системы растений практически не изучено.

Цель данной диссертационной работы состоит в выяснении поведения основных компонентов антиоксидантной системы проростков редиса под действием слабого постоянного горизонтального магнитного поля и последствий его длительного воздействия, в течение всего онтогенеза, на адаптивные возможности популяции этого растения.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Изучить действие слабого горизонтального постоянного магнитного поля на количественный состав некоторых компонентов неферментативной антиоксидантной системы, в частности, пролина, окисленного и восстановленного глутатиона.
2. Изучить действие слабого горизонтального постоянного магнитного поля на активность ферментов первичной антиоксидантной системы: супероксиддисмутазу (СОД), каталазу, пероксидазу.
3. Оценить общий уровень интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) по интенсивности образования одного из его конечных продуктов — малонового диальдегида (МДА).
4. Исследовать действие ПМП на онтогенез растений редиса и формирование семян.

Научная новизна. В работе впервые показано, что слабое горизонтальное постоянное магнитное поле оказывает модифицирующее действие на работу основных компонентов антиоксидантной системы. Обнаружено, что величина эффекта имеет сложную нелинейную зависимость и характер этой зависимости определяется возрастом проростков и наличием или отсутствием у них функционирующего фотосинтетического аппарата. Впервые показано действие ПМП различной индукции и совместного действия ПМП и различной освещенности на интенсивность образования МДА. Установлено, что влияние ПМП на ПОЛ носит светозависимый характер. Показано, что выращивание растений в условиях увеличенной индукции ПМП в течение всего жизненного цикла приводит к торможению появления очередных листьев, отставанию в прохождении стадий онтогенеза (стрелкование, бутонизация, цветение, плодоношение), а также изменяет структуру урожая семян.

Полученные результаты вносят существенный вклад в магнитобиологические исследования.

Практическая значимость. Выявленные особенности необходимо учитывать при выращивании растений в регионах, местностях и установках, ПМП в которых отличается от геомагнитного. Полученные данные могут быть использованы в курсах лекций по физиологии растений и экологии.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы представлены на V Международном конгрессе "Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине" (Санкт-Петербург, 2009), Всероссийском симпозиуме "Растения и стресс" (Москва, 2010), VII Съезде Общества физиологов растений России (Н.Новгород, 2011), VI Международном конгрессе "Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине" (Санкт-Петербург, 2012), IV Съезде биофизиков России (Н.Новгород, 2012), Всероссийской конференции "Инновационные направления современной физиологии растений" (Москва, 2013), X Международной конференции "Cosmos & Biosphere" (Коктебель, Украина, 2013), XIII Делегатском съезде Русского ботанического общества (Тольятти, 2013).

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в 12 печатных работах, из них 3 статьи в рецензируемых журналах, 1 статья в сборнике и 8 статей в сборниках материалов конференций.

Личный вклад автора. Содержание диссертации и основные положения, выносимые на защиту, отражают персональный вклад автора в опубликованные работы. Подготовка к публикации полученных результатов проводилась совместно с соавторами, причем вклад диссертанта был определяющим. Все представленные в диссертации результаты получены лично автором или при его участии.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 125 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследований, результатов, обсуждения, заключения и выводов. Работа содержит 5 таблиц и 39 рисунков. Список литературы включает 169 источников, из них 132 на иностранных языках

Объекты и методы исследований

Объектом исследования служили проростки и растения редиса (*Raphanus sativus* L. var. *radicula* D.C.) сорта "Розово-красный с белым кончиком". Для изучения антиоксидантной системы использовали 1–5 дневные проростки, выращенные в камере фитотрона ИФР им. К.А. Тимирязева РАН. Проростки выращивали в чашках Петри на увлажненной фильтровальной бумаге, под которой находился сложенный вчетверо слой марли. Проращивание осуществляли на дистиллированной воде как в темноте, так и на свету.

“Темновые” проростки находились в чашках, обернутых черной светонепроницаемой тканью. Длина светового периода для “световых” проростков, составляла 14 часов, а освещенность - 1 тыс. лк. Для изучения зависимости накопления малонового диальдегида от интенсивности света использовали 5-дневные проростки, проращиваемые в аналогичных условиях. Освещенность в данном случае составляла 1–6 тыс. лк с шагом в 1 тыс.

Опытные растения в ходе эксперимента помещали в две пары колец Гельмгольца диаметром 140 мм, генерирующих слабое горизонтальное постоянное однородное магнитное поле с индукцией 185, 310, 325, 390, 500¹, 620, и 650 мкТл. Контрольные растения находились в геомагнитном поле, индукция которого в месте проведения опыта составляла 35 мкТл, а его вектор был направлен под углом в 73° к горизонту. Векторы горизонтальной составляющей ГМП и искусственного ПМП совпадали.

Для изучения действия слабого ПМП на онтогенез растений, их выращивали в почве в винипластовых ящиках в оранжерее ИФР РАН при естественно возрастающей длине дня, освещенности и температуре (+14 ° ÷ 25 °С) в апреле-мае 2009 г. Опытные растения выращивали в кольцах Гельмгольца диаметром 400 мм, генерирующих постоянное горизонтальное магнитное поле с индукцией 500 мкТл. Контрольные растения располагались на таком расстоянии от колец Гельмгольца, чтобы инclinатор или буссоль не давали отклонений от первоначального значения при включении установки. Индукция ГМП в месте расположения контроля составляла примерно 35 мкТл и её вектор был направлен под углом 73° к горизонту. Вектор горизонтальной составляющей ГМП совпадал с вектором горизонтального ПМП.

Определение содержания свободного пролина в проростках редиса проводили по методике /Bates et al. 1973/.

Определение содержания малонового диальдегида в проростках редиса проводили по методу, предложенному в работе Лукаткина и Головановой/1988/.

Определение содержания окисленного и восстановленного глутатиона проводили оптимизированным методом Хиссени и Хильфа /Шалыго и др., 2007/.

Определение активности супероксиддисмутазы проводили по методу, основанному на оценке степени ингибирования образования на свету формаза — восстановленной формы нитро-синего тетразолия (НСТ), являющимся индикаторной ловушкой, которая усиливает генерацию супероксидных радикалов в реакции фотоокисления рибофлавина /Beauchamp, Fridovich, 1971/.

Определение активности каталазы. Активность каталазы определя-

¹ При данной величине индукции изучали зависимость эффекта ПМП на содержание МДА от интенсивности освещения и содержание окисленного и восстановленного глутатиона в проростках редиса

ли по изменению содержания перекиси водорода /Kumar, Knowels, 1993/.

Определение активности пероксидазы осуществляли по методу, описанному в работе Шевяковой и др. /2003/.

Статистическая обработка результатов. Для статистической обработки результатов применяли методы, изложенные в работах /Урбах, 1975; Glantz 2002/. Уровни вероятности альтернативной гипотезы (P) рассчитывали при помощи критерия множественных сравнений Стьюдента. Данный метод применялся для анализа содержания пролина, МДА и активности ферментов. Для анализа содержания окисленного и восстановленного глутатиона применяли метод сравнения двух эмпирических распределений по Студенту. На графиках приведены средние арифметические значения из трех биологических выборок в трех повторностях ($n=9$). В барах на всех графиках отображен 95% доверительный интервал. Для оценки уровня вероятности альтернативной гипотезы (P) при анализе образования семян под действием ПМП применяли критерий χ^2 . Во всех случаях различия считались достоверными при (P) < 0,05.

Статистическая обработка данных и создание графиков производилось при помощи программного обеспечения *R Statistical Software* и *Gnumeric Spreadsheet*.

Результаты

Важную роль в адаптации механизмов к условиям внешней среды играют протекторные соединения, в частности пролин, а также антиоксидантная система, регулирующая содержание активных форм кислорода (АФК) в клетках. Протекторные соединения защищают биополимеры цитоплазмы (белки, нуклеиновые кислоты и липиды) от неблагоприятного действия стресс-факторов, а антиоксидантная система не позволяет АФК накапливаться в клетках выше токсического уровня. В связи с этим представлялось важным исследовать содержание пролина и компонентов антиоксидантной системы, в частности, восстановленного и окисленного глутатиона, а также определить активность ферментов антиоксидантной системы (СОД, каталазы, пероксидазы) в проростках редиса в условиях действия постоянного магнитного поля. Кроме того, представлялось целесообразным в условиях действия ПМП определить в проростках содержание малонового диальдегида - одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов, происходящего под действием избытка АФК.

Действие ПМП на содержание пролина

На первые сутки, как в темноте, так и на свету в проростках наблюдалось снижение содержания пролина (Рис. 1) по мере увеличения индукции ПМП. На 2-е сутки эффект отсутствовал или наблюдалось незначительное увеличение его содержания. На 3–5 сутки при малых величинах индукции ПМП

(185–325 мкТл) содержание пролина было ниже контрольных значений. С увеличением индукции ПМП содержание пролина в темноте и на свету возрастало и становилось выше контрольных значений.

Действие ПМП на содержание окисленного и восстановленного глутатиона

Содержание окисленного и восстановленного глутатиона в проростках измеряли при индукции ПМП 500 мкТл в течение 5 суток с момента начала проращивания семян.

Содержание восстановленного глутатиона на 1–3 сутки в темновых проростках под действием ПМП было ~ на 15–25% ниже, чем в контроле (Рис. 2). На 4-е сутки содержание восстановленного глутатиона становилось выше, чем в контроле (~ на 25%). На 5-е сутки ПМП в темноте не оказывало какого-либо заметного действия. У световых проростков на 1–3 сутки, в отличие от темновых, увеличение содержания восстановленного глутатиона под действием поля возрастало. При этом эффект ПМП был самым большим на 1-е сутки. Прирост составлял 64% по сравнению с контролем. Стимулирующее действие ПМП на свету в последующие двое суток ослабевало и на 4-е сутки оно полностью исчезало. На 5-е сутки ПМП снова увеличивало содержание восстановленного глутатиона (на 25% по сравнению с контролем).

В темновых проростках ПМП не оказывало влияния на содержание окисленного глутатиона на 1-е и 4-е сутки (Рис. 3). На 2-е, 3-и и 5-е сутки происходило увеличение содержания окисленного глутатиона в проростках на 236%, 33% и 18%, соответственно. У световых проростков наблюдали увеличение содержания окисленного глутатиона на 1-2 сутки (на 50% и 85% выше контрольных значений, соответственно). На 3-и сутки увеличение содержания глутатиона было менее значительным, оно составило 15% по сравнению с контролем. На 4-е и 5-е сутки ПМП практически не оказывало действия. Таким образом, слабое ПМП по-разному влияло на содержание окисленного и восстановленного глутатиона в темновых и световых проростках в зависимости от их возраста и, соответственно, продолжительности действия ПМП.

Действие ПМП на накопление малонового диальдегида

Низкие величины индукции ПМП (185–390 мкТл) вызывали увеличение содержания МДА в проростках. Это наблюдалось в темновых и световых проростках всех возрастов, однако в 1-е сутки эффект ПМП не был статистически достоверным (Рис. 4). При высоких индукциях ПМП (620–650 мкТл) происходило снижение содержания МДА в проростках до более низких значений, чем в контроле. Снижение наблюдалось на 1-е, 2-е, 3-и и 5-е сутки и было особенно ярко выражено на 2-е и 3-и сутки.

Поскольку генерация АФК в растениях и последующее за нею ПОЛ неразрывно связана с работой фотосинтетического аппарата и условиями освещения, представлялось особенный интерес изучение совместного действия раз-

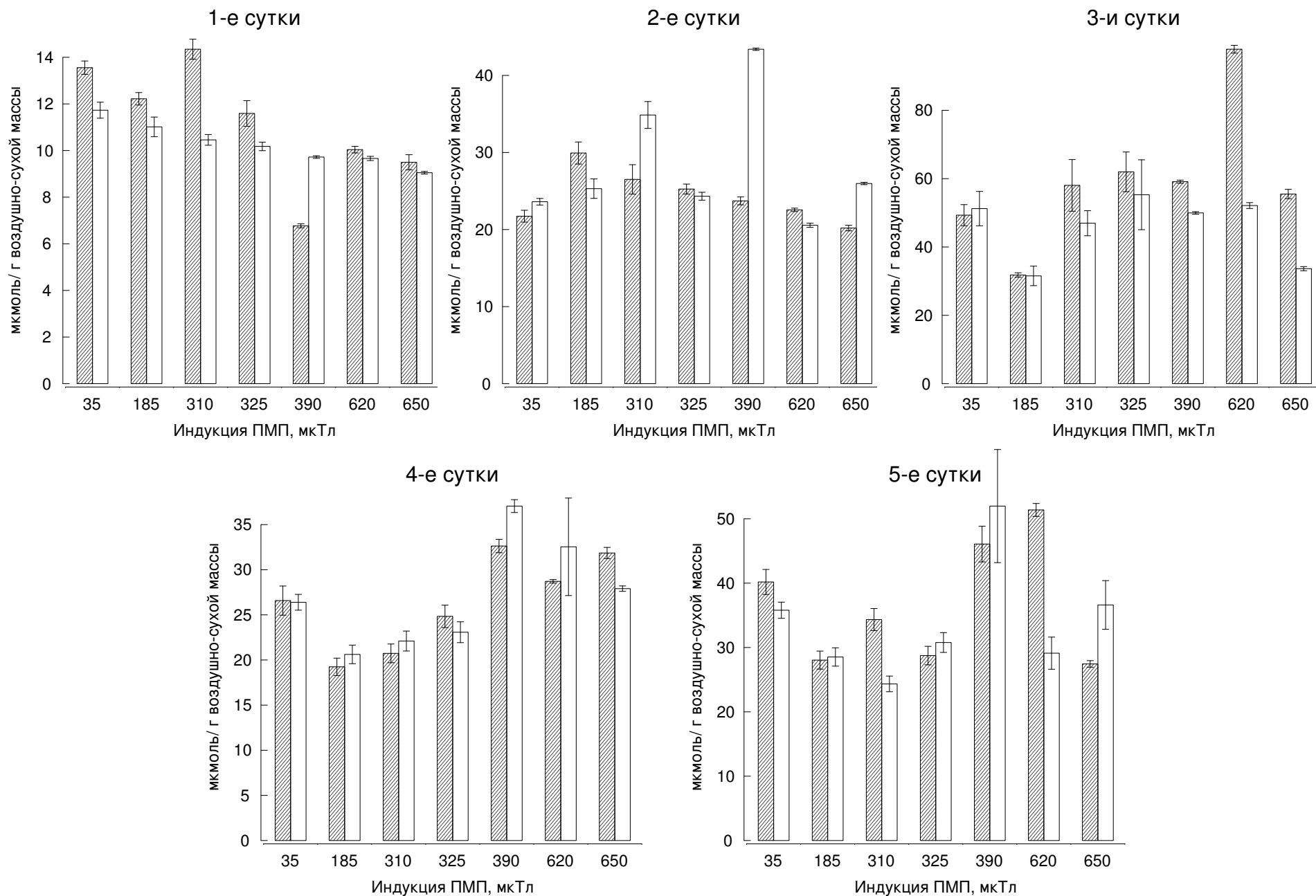


Рис. 1. Содержание пролина в темновых (заштрихованные столбцы) и световых (светлые столбцы) проростках при действии ПМП с индукцией 185–650 мкТл в течение 5 суток с момента начала проращивания семян. Контроль (ГМП) — 35 мкТл.

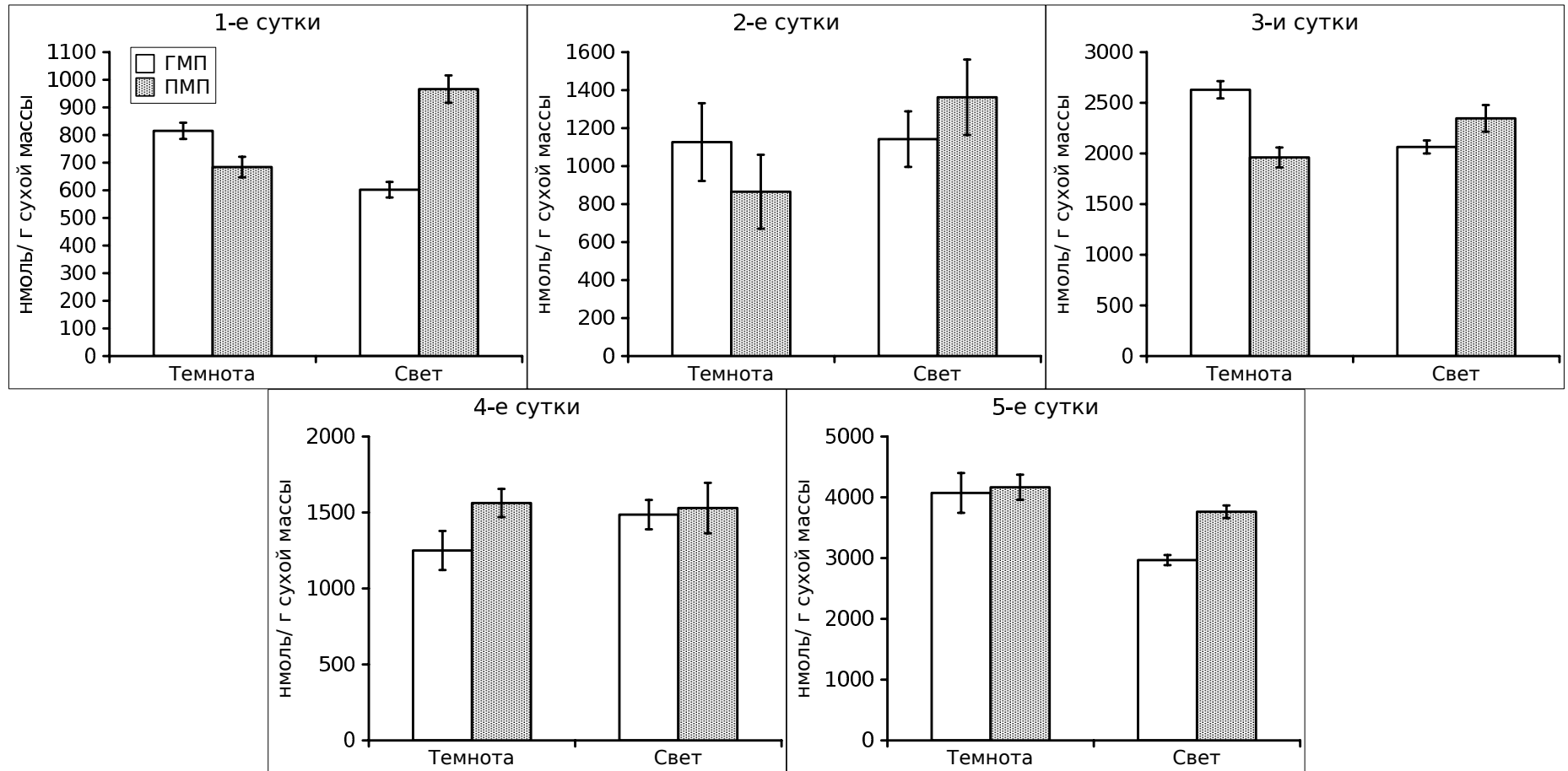


Рис. 2. Содержание восстановленного глутатиона в темновых и световых проростках при действии ПМП с индукцией 500 мкТл в течение 5 суток с момента начала проращивания семян. Контроль (ГМП) — 35 мкТл.

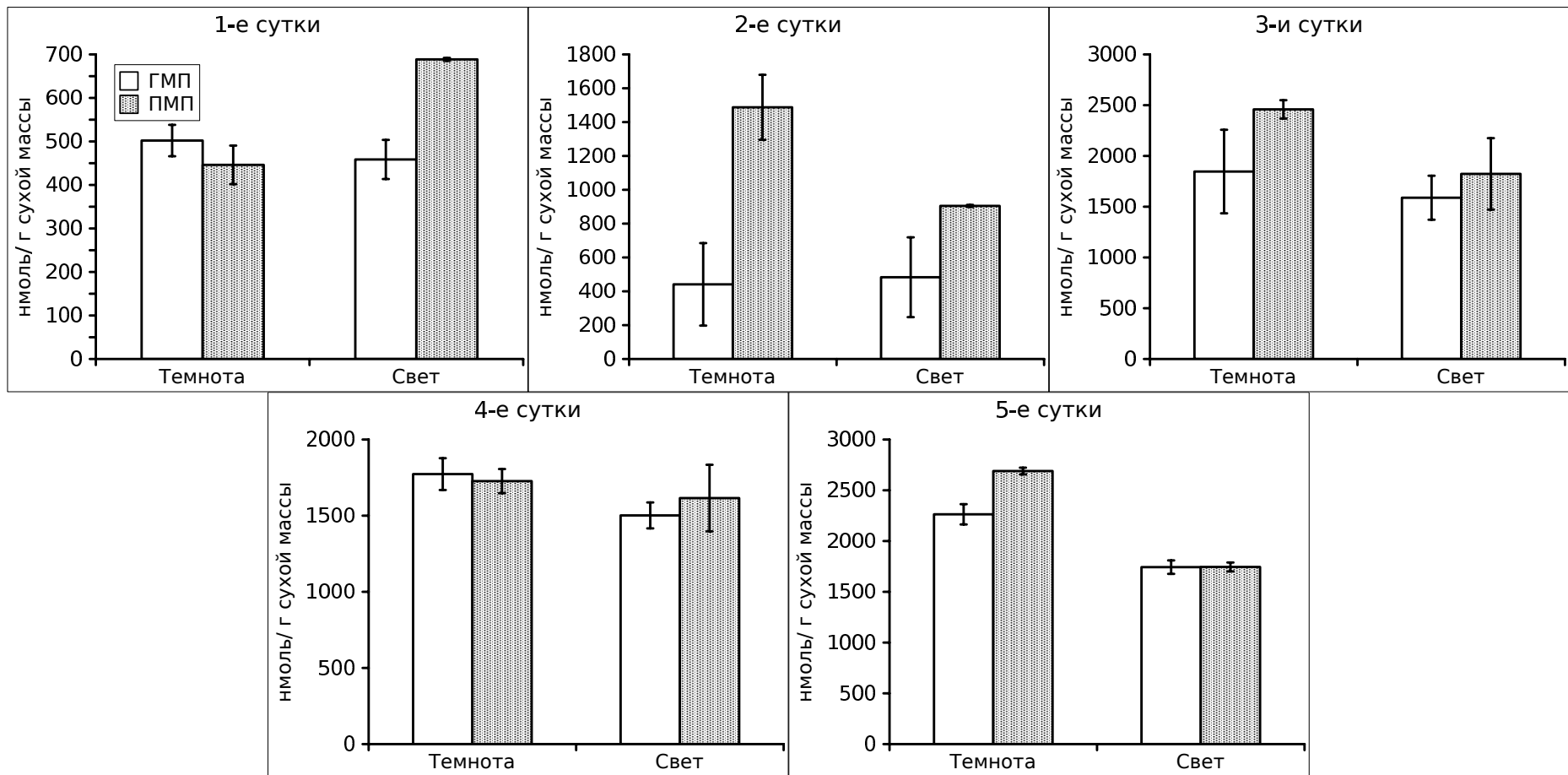


Рис. 3. Содержание окисленного глутатиона в темновых (заштрихованные столбцы) и световых (светлые столбцы) проростках при действии ПМП с индукцией 500 мкТл в течение 5 суток с момента начала проращивания семян. Контроль (ГМП) — 35 мкТл.

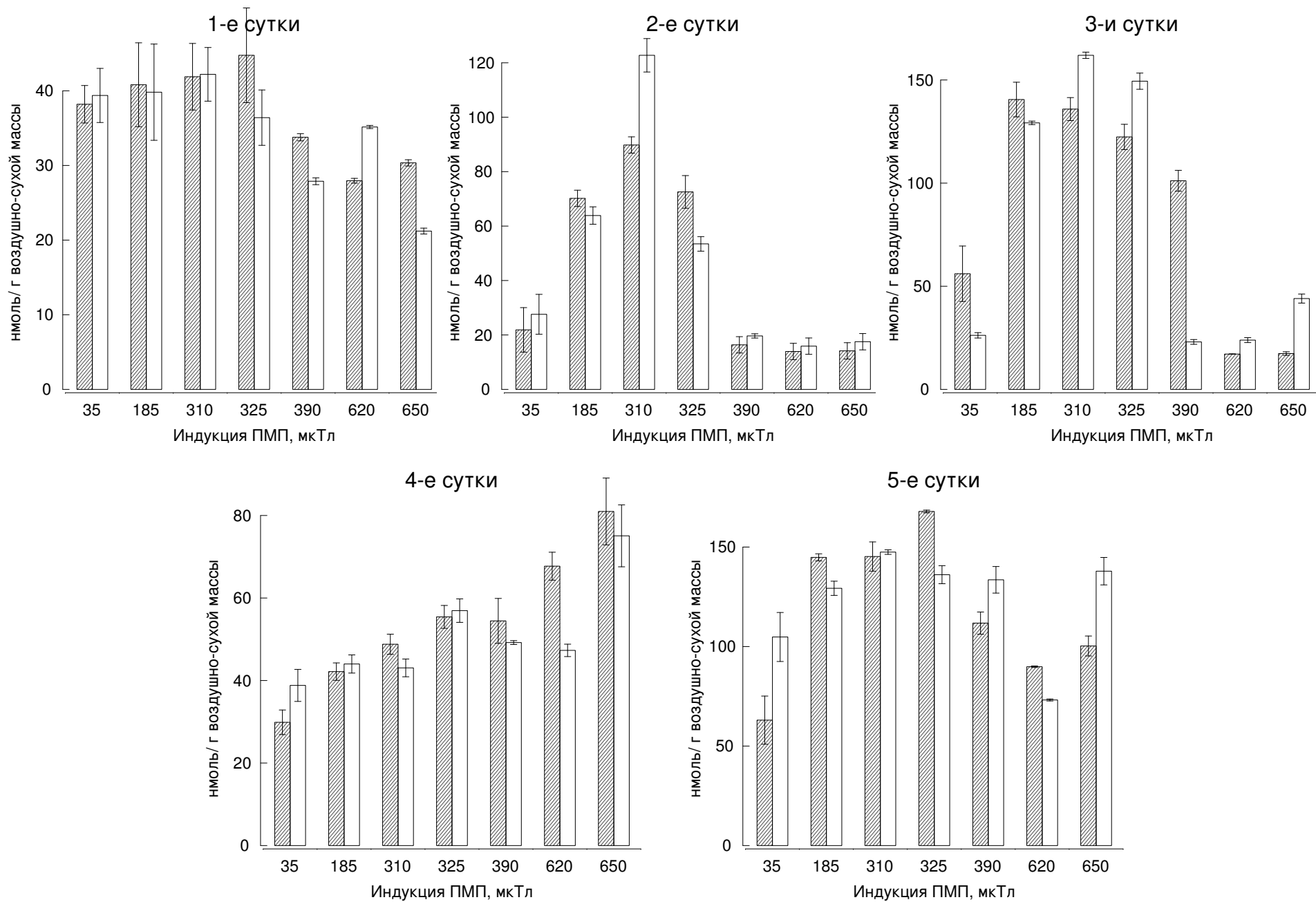


Рис. 4. Содержание МДА в темновых (заштрихованные столбцы) и световых (светлые столбцы) проростках при действии ПМП с индукцией 500 мкТл в течение 5 суток с момента начала проращивания семян. Контроль (ГМП) — 35 мкТл.

личной освещенности и ПМП на содержание одного из конечных продуктов ПОЛ — малонового диальдегида. Данные о совместном действии ПМП с индукцией 500 мкТл и освещения в диапазоне 1–6 клк на накопление МДА показывают, что повышение освещенности в 6 раз не вызывало однозначной направленности изменения ПОЛ между контролем и опытом. Максимальное накопление МДА на свету наблюдали при освещенности 2000 лк в контроле и 3000 лк в ПМП. В противоположность световому варианту, где ПМП неоднозначно действовало на содержание МДА, в темноте содержание МДА под действием поля увеличивалось. В целом, независимо от интенсивности света в пределах 2000–6000 лк среднее содержание МДА в контроле и ПМП оказалось выше, чем в темноте, а их отношение (С/Т) было несколько выше в контроле, чем в ПМП.

Действие ПМП на активность супероксиддисмутазы

При малых величинах индукции ПМП (185–325 мкТл) активность СОД повышалась в световых и темновых проростках на 3-и и 4-е сутки (Рис. 5). В остальных вариантах эксперимента эффекты ПМП не проявлялись или были малозаметны. При более высоких (390–650 мкТл) величинах индукции ПМП наблюдалось снижение активности фермента на 3-и и 4-е сутки у темновых и световых проростков, а также у темновых проростков на 2-е сутки. На 5-е сутки при малых значениях индукции ПМП (185–325 мкТл) в темновых проростках снижалась активность СОД, а при бóльших (390–650 мкТл) - повышалась.

Действие ПМП на активность каталазы

Изменения в активности каталазы (Рис. 6) в ответ на действие ПМП отличались волнообразным характером. Так, в темновых проростках на 1-е сутки минимальная активность наблюдалась при 310–325 мкТл. На вторые сутки минимум сместился к 185–325 мкТл. На 3-и сутки, минимум приходился на контроль и ближайшую к контролю точку — 185 мкТл. На 4-е сутки начала формироваться новая "волна" с минимумом при 650 мкТл, который на 5-е сутки сместился к 185–390 мкТл. Аналогичные эффекты ПМП наблюдались и в световых проростках. Пик активности каталазы через сутки действия ПМП приходился на 650 мкТл, на 2-е сутки пик сместился к 620 мкТл, а на 3-и — к 185 мкТл. При этом при 620 мкТл сформировался второй пик, переместившийся на 4-е сутки к 310 мкТл.

Действие ПМП на активность пероксидазы

Под действием ПМП с малыми величинами индукции (185–325 мкТл) у темновых проростков со 2-х по 5-е сутки в целом наблюдалось повышение активности пероксидазы (Рис. 7). При высоких значениях индукции ПМП активность фермента не превышала контрольные значения. Аналогичная тенденция наблюдалась и у световых проростков. Исключение составил результат, полученный на 4-е сутки.

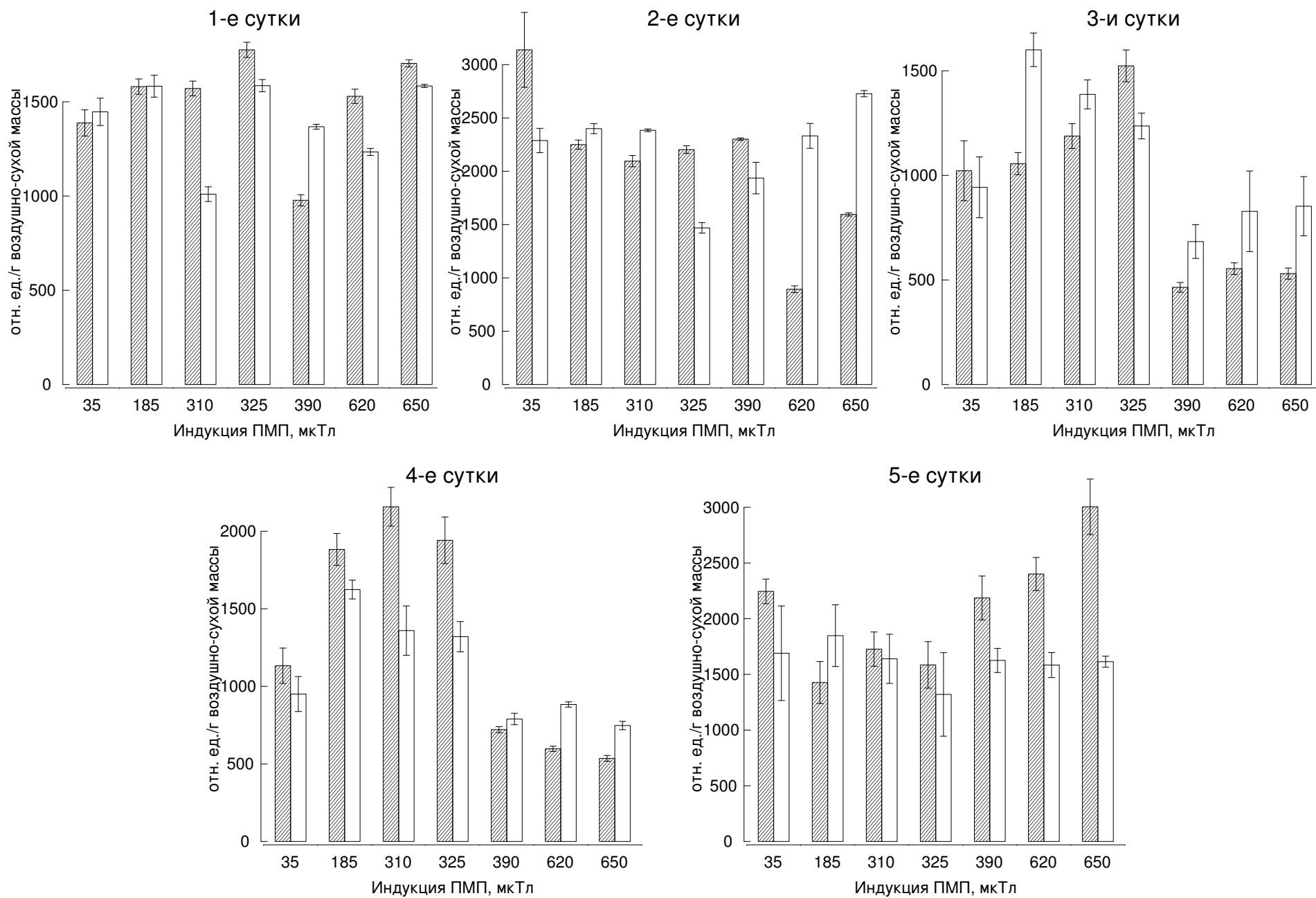


Рис. 5. Активность СОД в темновых (заштрихованные столбцы) и световых (светлые столбцы) проростках при действии ПМП с индукцией 185–650 мкТл в течение 5 суток с момента начала проращивания семян. Контроль (ГМП) — 35 мкТл.

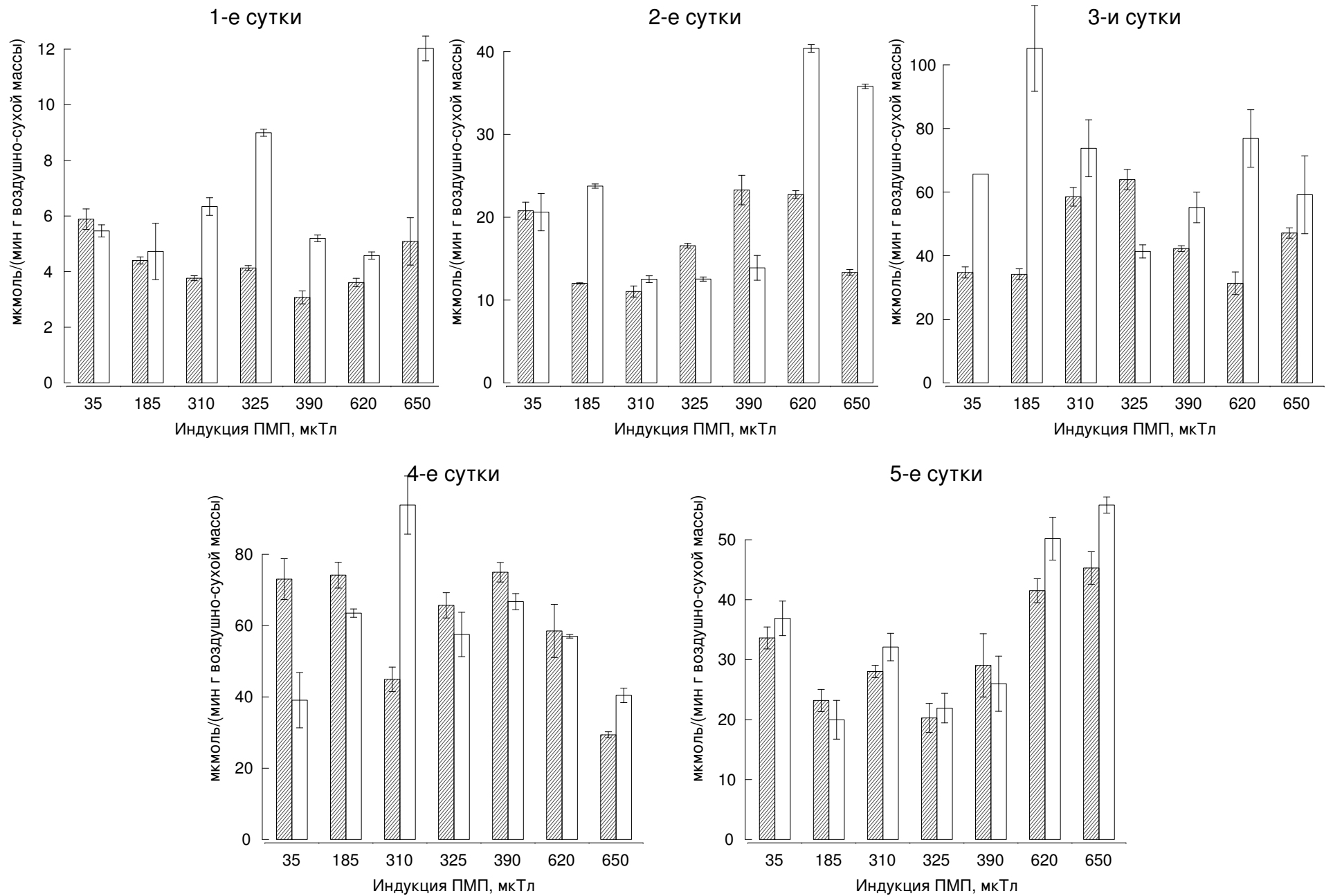


Рис. 6. Активность каталазы в темновых (заштрихованные столбцы) и световых (светлые столбцы) проростках при действии ПМП с индукцией 185–650 мкТл в течение 5 суток с момента начала проращивания семян. Контроль (ГМП) — 35 мкТл.

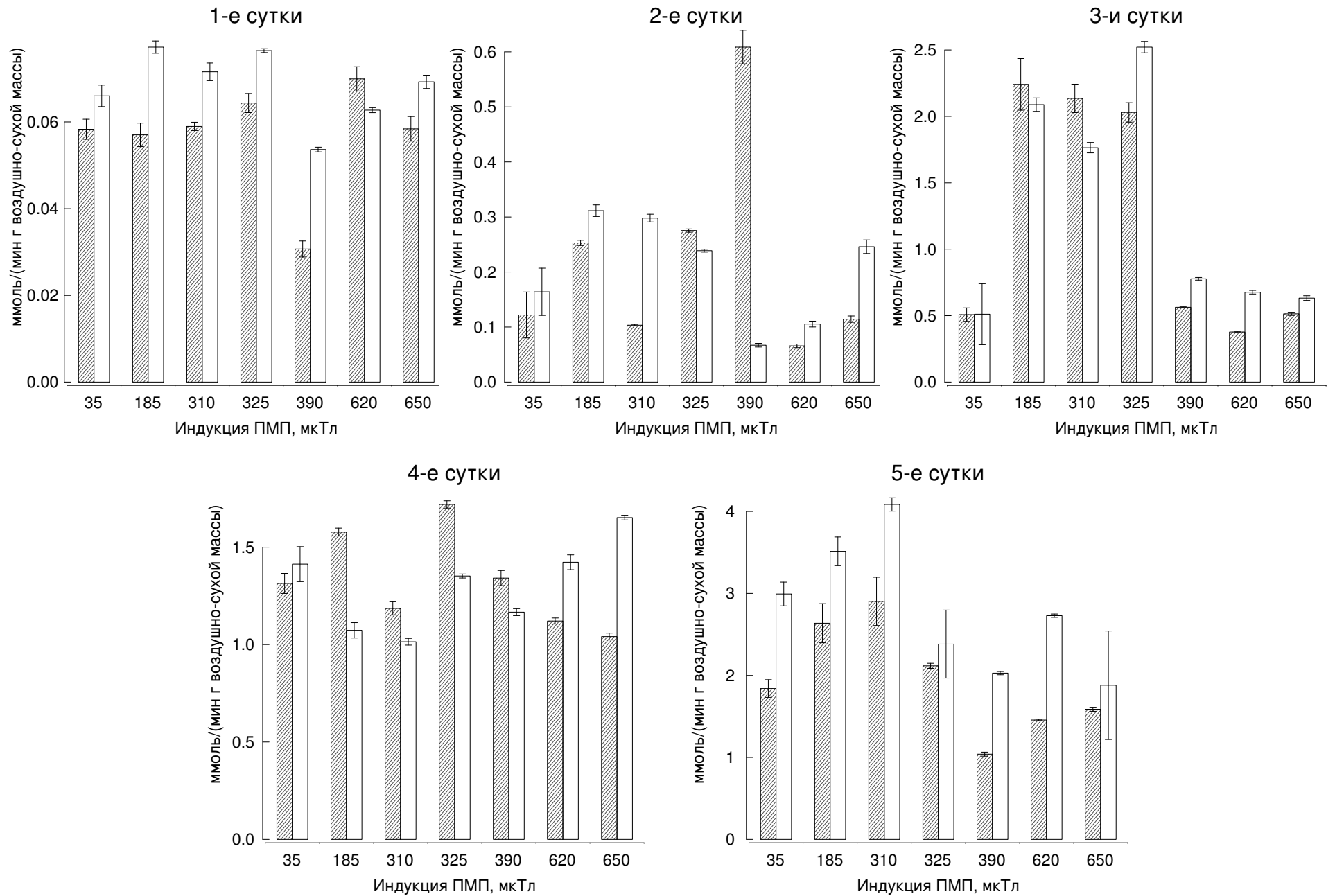


Рис. 7. Активность пероксидазы в темновых (заштрихованные столбцы) и световых (светлые столбцы) проростках при действии ПМП с индукцией 185–650 мкТл в течение 5 суток с момента начала проращивания семян. Контроль (ГМП) — 35 мкТл.

Влияние постоянного магнитного поля на прохождение стадий онтогенеза и структуру урожая семян.

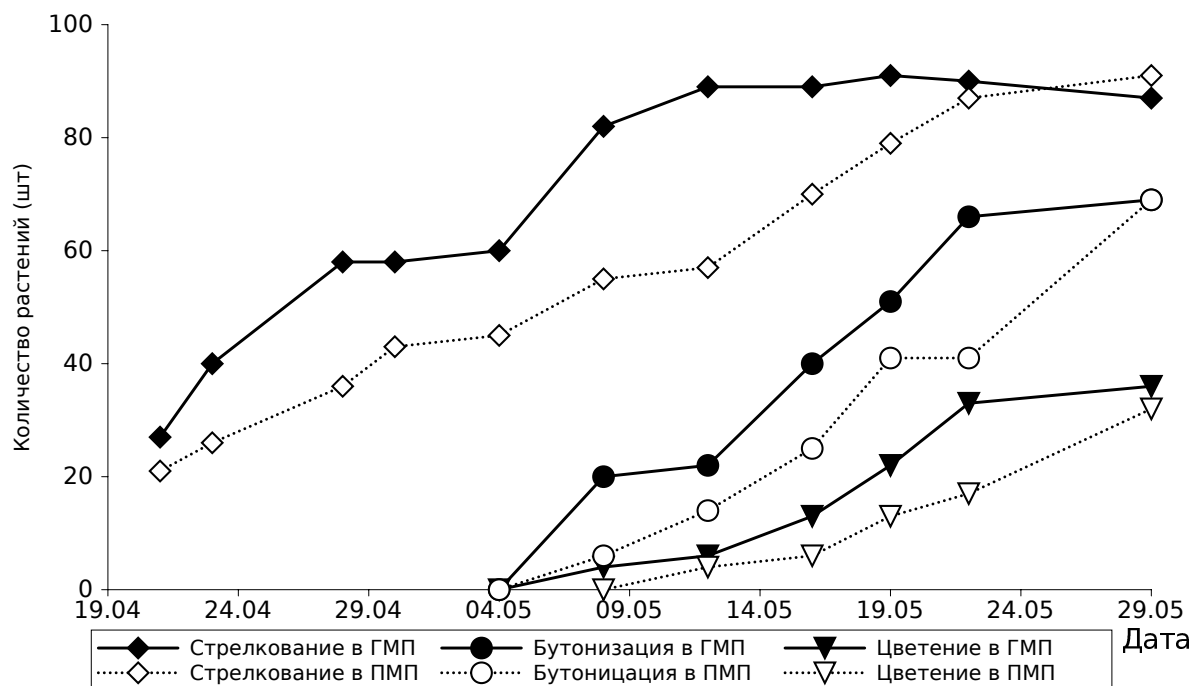


Рис. 8. Динамика прохождения стадий онтогенеза у растений редиса в ПМП и ГМП (в пересчете на 100 растений)

Наиболее объективным показателем физиологического состояния растения и его приспособленности к неблагоприятным факторам окружающей среды являются данные о прохождении стадий онтогенеза, массы его вегетативных и генеративных органов, а также данные о структуре урожая.

В связи с этим исследовали влияние слабого ПМП на развитие растений редиса в течение всего онтогенеза от прорастания семян, образования очередных листьев, стрелкования, бутонизации цветения до формирования полноценных семян у СЮ и ЗВ МОТ редиса. К моменту появления 9-го очередного листа растения начинали переходить к стрелкованию и различия между опытом и контролем

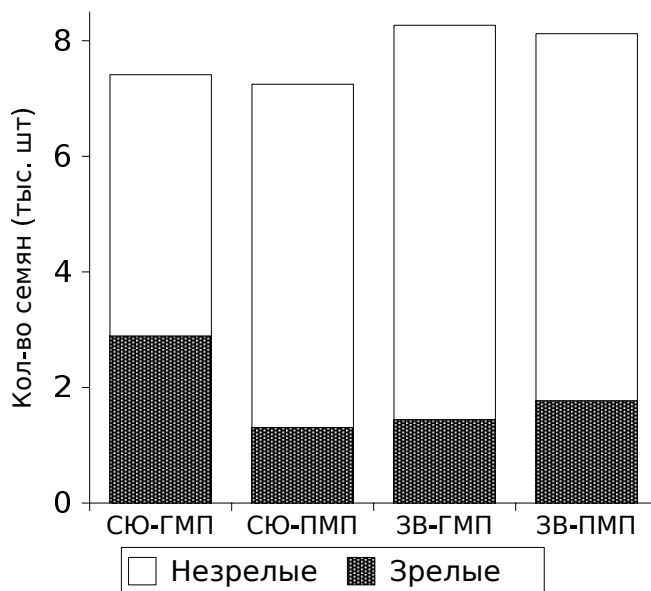


Рис. 9. Влияние ПМП на количество семян в стручках редиса различных МОТ в пересчете на 100 растений

становились более выраженными (Рис. 8). Отставание в развитии происходило на стадии стрелкования (максимум 23–28 апреля, запоздывание на 35–40% от контроля), бутонизации (запоздывание на 40–70% от контроля 8–16 мая) и цветения (запоздывание на 40–55% 16–22 мая). У СЮ МОТ ПМП уменьшало массу и количество зрелых семян, что приводило к более чем двукратному уменьшению их общего числа и массы (Рис. 9). У ЗВ МОТ ПМП увеличивало общее число зрелых семян на 20%. Количество незрелых семян у СЮ МОТ под действием ПМП увеличилось на 30% при неизменившейся их массе. У ЗВ МОТ ПМП слабо влияло на количество и массу незрелых семян и лишь незначительно снизило общее количество и массу незрелых семян. Общее количество семян под действием ПМП осталось неизменным как у СЮ МОТ, так и у ЗВ МОТ, однако у СЮ МОТ средняя масса одного семени уменьшилась (за счет снижения таковой у незрелых семян). Таким образом, слабое постоянное магнитное поле действовало по-разному, иногда противоположным образом на количество и массу зрелых и незрелых семян, образующихся в стручках СЮ и ЗВ МОТ редиса.

Обсуждение

Анализируя полученные данные, можно выделить ряд закономерностей. В первую очередь наблюдается обратная корреляция между изменением концентрации пролина и МДА. При снижении содержания пролина при малых величинах индукции ПМП происходило увеличение концентрации МДА, в то время как при больших величинах индукции высокое содержание пролина наблюдалось одновременно со снижением уровня МДА до уровня контроля и ниже.

Таблица 1. Действие слабого постоянного магнитного поля с индукцией 500 мкТл на отношение содержания окисленного глутатиона к восстановленному

| Сутки | Свет | | Темнота | |
|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | ГМП | ПМП | ГМП | ПМП |
| 1 | 0,46±0,07 | 0,54±0,09 | 0,59±0,10 | 0,43±0,07 |
| 2 | 0,39±0,15 | 0,65±0,19 | 0,40±0,14 | 0,59±0,51 |
| 3 | 0,53±0,11 | 0,79±0,12 | 0,54±0,11 | 0,51±0,14 |
| 4 | 0,64±0,15 | 0,68±0,19 | 0,82±0,27 | 0,54±0,09 |
| 5 | 0,36±0,09 | 0,41±0,10 | 0,37±0,09 | 0,31±0,09 |

Несмотря на отсутствие определенной тенденции в изменении содержания окисленного и восстановленного глутатиона под действием магнитного

поля, в темноте, во всех случаях, отношение содержания окисленного глутатиона к восстановленному было выше, чем на свету (Табл. 1). Это свидетельствует о том, что в темновых проростках в ПМП происходит увеличение той части глутатионового пула, которая не выполняет непосредственных антиоксидантных функций и, в целом, приводит к снижению эффективности работы этого звена антиоксидантной системы.

Для того, чтобы оценить характер действия ПМП на световые проростки в сравнении с темновыми, удобно воспользоваться показателем С/Т — отношением изучаемого параметра в световых проростках к таковому в темновых. Анализируя таким способом активность антиоксидантных ферментов (Рис. 10) в проростках, выращенных при разной индукции ПМП, мы выявили ряд тенденций.

Минимальные значения отношения С/Т для активности супероксиддисмутазы на первые сутки приходились на 310 и 620 мкТл. На 2-е и 3-и сутки они смещались к меньшим значениям индукции — 35 и 325 мкТл. На 4-е сутки один из минимумов выходил за пределы используемого в эксперименте диапазона индукций, а оставшийся смещался к меньшей величине — 310 мкТл.

Аналогичным образом ПМП действовало и на отношение С/Т активности каталазы. На 1-е сутки помимо минимума в контроле, наблюдался минимум при 620 мкТл. На 2-е сутки этот минимум смещался к 390 мкТл, на 3-и сутки — к 325 мкТл, а на 4-е он обнаруживался при величине индукции равной индукции геомагнитного поля.

Таким же образом изменялось отношение С/Т активности пероксидазы. Минимум этой величины на 1-е сутки наблюдался при 620 мкТл, на 2-е сутки — при 390 мкТл, на 3-и сутки — при 310 и на 4-е сутки — при 185 мкТл.

Такой скачок в соотношении во всех случаях обуславливается в первую очередь снижением активности на свету как по сравнению с таковой в темноте, так и по сравнению с соседними “световыми” значениями. Т.е. в световых проростках под действием ПМП с определенной величиной индукции происходит срабатывание некоего триггера, которое вызывает резкое снижение активности ферментов по сравнению с таковой, обусловленной прочими внешними факторами. Причем характер срабатывания этого триггера носит дозовую зависимость — при более высоких значениях индукции срабатывание происходило раньше, а более низким индукциям требовался более долгий промежуток времени для проявления этого эффекта.

Примечательно, что данный эффект действия ПМП проявлялся уже на 1-е сутки. Учитывая, что к этому моменту только начинается наклевывание семян, можно предположить, что качественные различия между световым и темновым вариантами еще отсутствуют. Под качественными различиями мы понимаем наличие веществ или структур, отличающих их друг от друга.

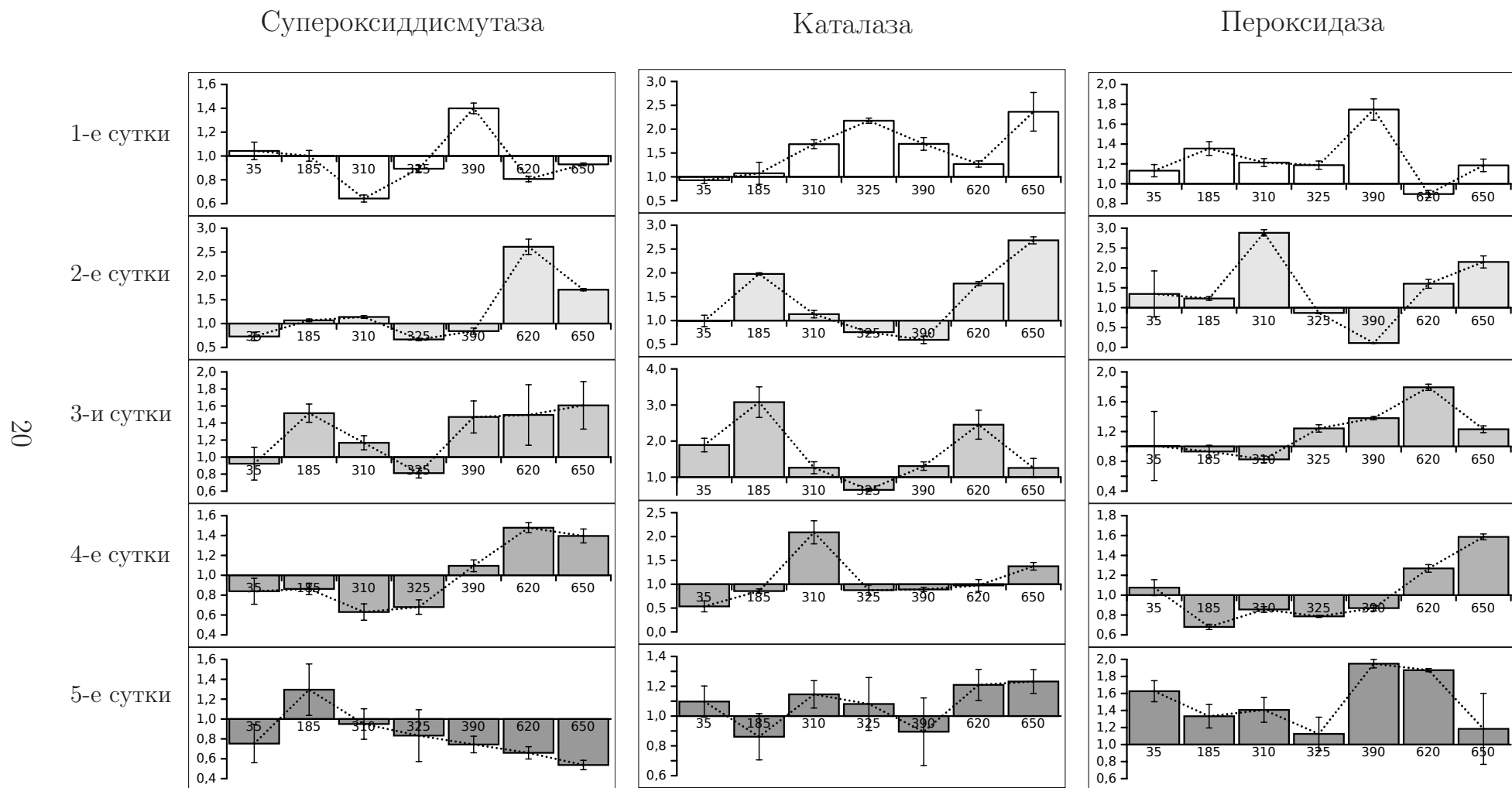


Рис. 10. Отношение С/Т для активности ферментов при действии ПМП с индукцией 185–650 мкТл.

Исходя из этого, можно предположить, что подобная реакция связана с механизмами и процессами рецепции света, например, через фитохромы и криптохромы. Для последних теоретически обоснована /Solovyov et al., 2007/ и показана /Ahmad et al., 2007/ чувствительность к действию ПМП.

Помимо данного эффекта, ПМП в широком диапазоне индукций вызывает и другие разнообразные, отличные от контроля реакции как в концентрации низкомолекулярных антиоксидантов, так и в активности антиоксидантных ферментов. На данный момент существует несколько гипотез о механизме действия ПМП на живые организмы, способных объяснить высокую изменчивость реакции компонентов антиоксидантной системы на магнитное поле.

В модели, предложенной Аристарховым /2003/, магнитное поле влияет на вероятность рекомбинации радикальных пар и, соответственно, может менять эффективность работы ферментов, в катализе которых присутствуют стадии с участием свободных радикалов. Величина эффекта определяется константой сверхтонкого взаимодействия (СТВ-константой), индивидуальной для каждого радикала и являющейся величиной индукции ПМП, при которой вероятность рекомбинации радикальной пары максимальна. Для данного механизма теоретически предсказывается экстремальная зависимость эффектов в полях, сравнимых по величине индукции с локальным полем СТВ (рис.11). Соответственно, величина биологического эффекта также может иметь подобную экстремальную зависимость.

Активность антиоксидантного фермента или концентрация низкомолекулярного антиоксиданта является суммарным ответом, опосредованным через системы внутриклеточной регуляции и сигнализации. Поэтому “ответственными” за происходящие изменения могут быть сразу несколько реакций с участием разных свободных радикалов и, соответственно, с разными СТВ-константами, определяющими эффективную величину индукции. При этом стоит учитывать и свободнорадикальные реакции, катализируемые самими антиоксидантными ферментами.

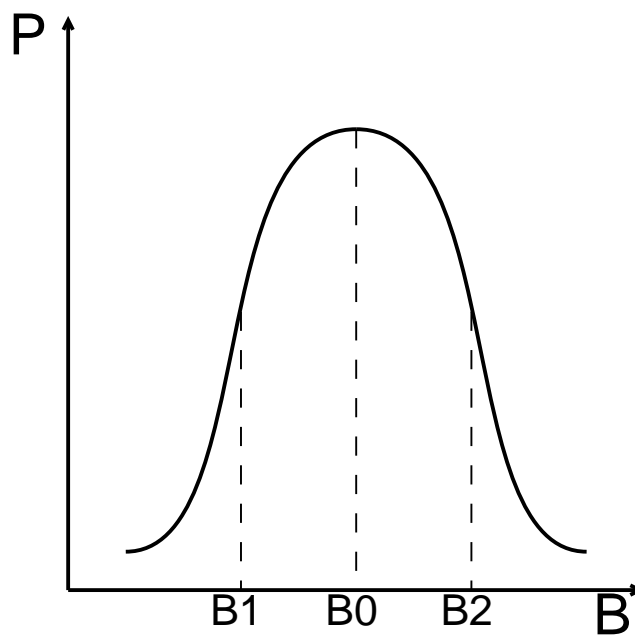


Рис. 11. Зависимость вероятности S-T-переходов (P) от величины индукции магнитного поля (B). B_0 — величина индукции магнитного поля равная СТВ-константе

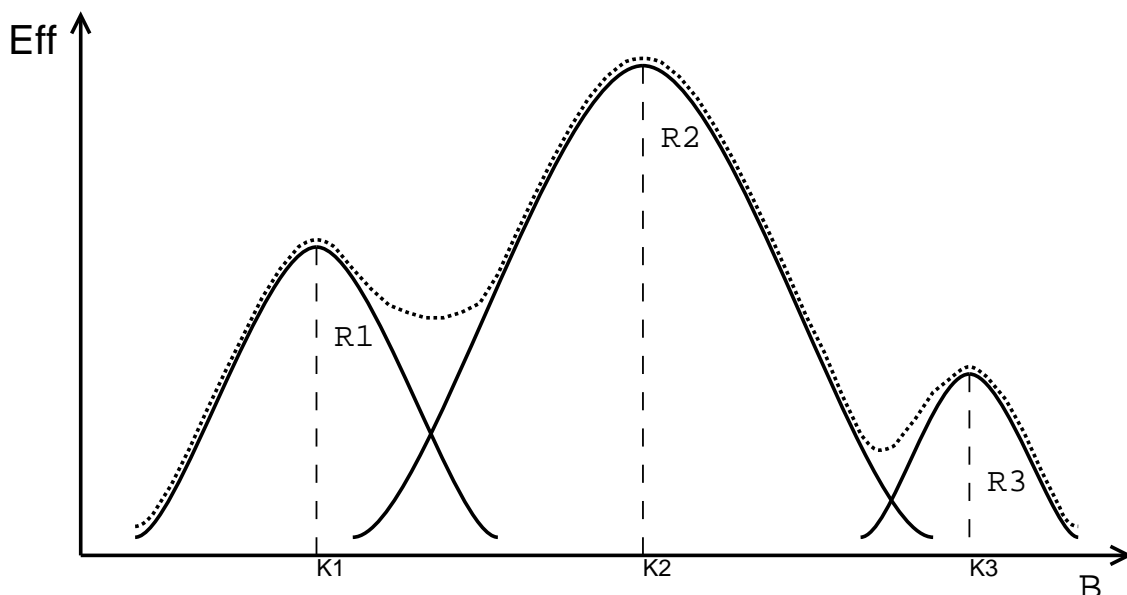


Рис. 12. Условная схема действия ПМП различной индукции на биологический эффект (по Аристархову). K_1, K_2, K_3 — СТВ-константы для радикалов R_1, R_2, R_3 , соответственно. Пунктирной линией обозначен суммарный биоэффект. Ось абсцисс — индукция ПМП, ось ординат — величина эффекта.

Таким образом, сложное и нелинейное поведение компонентов антиоксидантной системы является результатом суперпозиции сразу нескольких эффектов магнитного поля на свободнорадикальные реакции со своими СТВ-константами (Рис. 12).

Однако, СТВ-константы, на данный момент, известны лишь для небольшого количества простых неорганических свободных радикалов. И поэтому установить конкретные свободнорадикальные реакции, являющиеся причиной этих изменений, не представляется возможным.

Другой причиной лабильности компонентов антиоксидантной системы может являться совместное действие используемого нами ПМП с фоновым электромагнитным излучением окружающей среды как естественного, так и антропогенного происхождения. Механизм такого совместного действия описывается резонансными моделями, например, моделью ион-параметрического резонанса [Lednev, 1991]. Значения биологически эффективных частот для переменной составляющей поля определяется следующим выражением:

$$f_n = \frac{1}{n} \frac{q}{2\pi m} B_{DC}, \text{ где:}$$

f_n — резонансная частота переменной компоненты; (Герц); q — заряд иона (Кулон); m — масса иона (килограмм); B_{DC} — магнитная индукция постоянной компоненты (Тесла); n — целое число, равное 1, 2, 3... .

Из выражения видно, что для каждого иона и для каждой конкретной величины индукции ПМП может существовать своя биологически эффективная частота. Кроме того, спектр фонового электромагнитного излучения довольно широк, а биологический эффект может быть обусловлен изменением поведения сразу нескольких биологически важных ионов (Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , H^+ , а также кофакторов антиоксидантных ферментов).

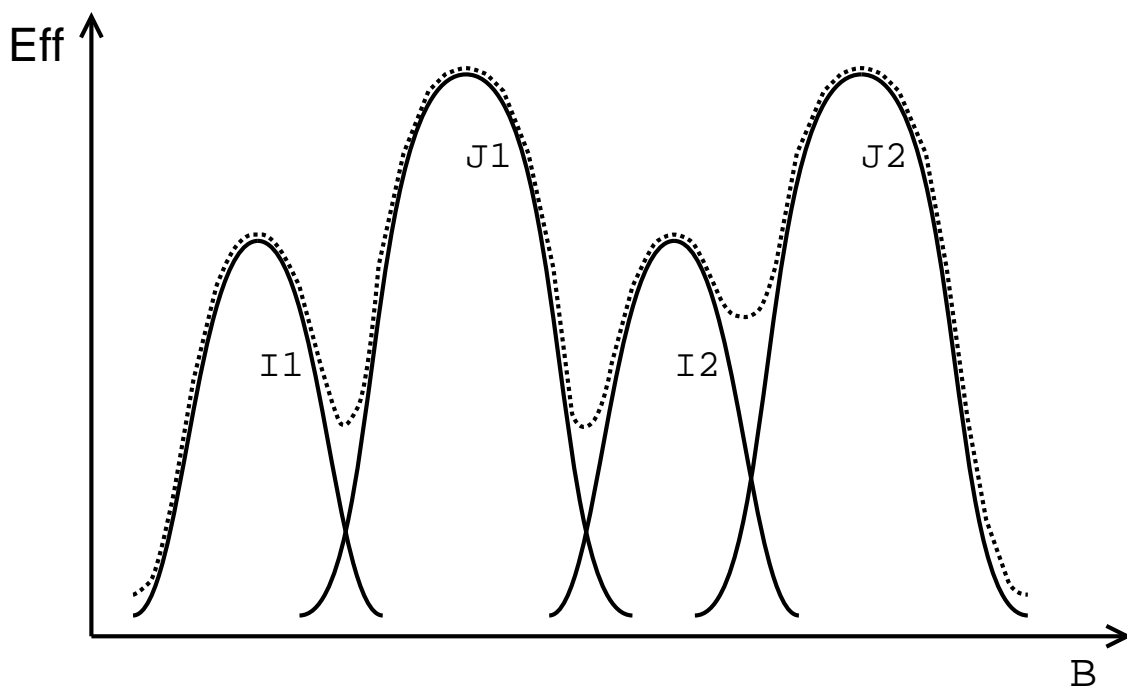


Рис. 13. Условная схема действия ПМП различной индукции на биологический эффект (по Ледневу). I_1 , I_2 — резонансы для первого иона, J_1 , J_2 — резонансы для второго иона. Пунктирной линией обозначен суммарный биоэффект. Ось абсцисс — индукция ПМП, ось ординат — величина эффекта.

Учитывая это, можно предположить, что лабильность реакции антиоксидантной системы является результатом суперпозиции нескольких резонансных эффектов действия МП на различные ионы (Рис. 13).

Заключение

Определенную трудность в изучении эффекта МП составляет то, что оно не проявляет выраженного летального действия, что не позволяет определить некие “зоны комфорта”, а также однозначно отметить позитивное или негативное действие поля. Несмотря на нелетальный характер действия поля, слабое ПМП, модифицируя ответ антиоксидантной системы на другие стрессовые факторы, может играть решающую роль в процессе выживания растений на ранних этапах развития. Действие ПМП в течение всего жизненного цикла растений приводит к значительному изменению структуры

урожая, которая выражается в том, что часть популяции получает преимущества в репродуктивной функции по сравнению с остальными растениями. Например, увеличение количества семян отмечено у ЗВ МОТ в 2009 г в отличие от СЮ МОТ, у которого количество зрелых семян уменьшалось.

В отличие от многих других факторов (радиация, действие тяжелых металлов, высоких температур и др.), МП не обладает однозначной прямой зависимостью “доза-эффект”. Разнонаправленный характер такого действия как проистекает из ряда теоретических выкладок по возможным механизмам действия МП, так и подтверждается экспериментально.

Наблюдаемые нами эффекты вероятнее всего вызваны не только самим МП непосредственно, но и являются физиологической реакцией, опосредованной через системы сигнализации и регуляции растения. В рамках такого подхода представляет интерес экологический аспект - оценка адаптивных способностей растения и возможность их модификации под действием МП.

Таким образом, действие МП зависит не только от характеристик самого поля (индукция, направление, градиент), но и от физиологического статуса растений: реакция световых и темновых проростков различалась, так же как и у проростков разного возраста, что, по-видимому, связано с наличием или отсутствием, появлением или исчезновением тех или иных структур, являющихся мишенью действия магнитного поля.

Выводы

1. Слабое горизонтальное ПМП в диапазоне 185–650 мкТл изменяло активность антиоксидантных ферментов и количественное соотношение компонентов неферментативной антиоксидантной системы проростков редиса по сравнению с ГМП.
2. Реакция антиоксидантной системы на действие слабого постоянного магнитного поля зависит от возраста проростков редиса, что связано с появлением или исчезновением в процессе развития проростка структур, являющихся мишенью магнитного поля. Эта реакция отличается у темновых (этиолированных) и световых проростков, что связано с их различиями в организации и регуляции метаболизма.
3. Показано, что, несмотря на противоречивый характер действия на динамику содержания МДА на свету в диапазоне 1–6 клк и в темноте, отношение содержания МДА на свету к его содержанию в темноте (С/Т) в ПМП ниже, чем в контроле. В пределах применявшегося в исследованиях диапазона интенсивностей света не было обнаружено явной зависимости накопления МДА от освещенности.
4. Несмотря на отсутствие определенной тенденции в действии ПМП на содержание окисленного и восстановленного глутатиона, поле увеличивает отношение окисленного глутатиона к восстановленному в темноте

и уменьшает на свету, что свидетельствует об уменьшении рабочего пула глутатиона в темноте и его увеличении на свету.

5. При длительном воздействии, в течение всего онтогенеза, ПМП тормозило образование очередных листьев и прохождение стадий онтогенеза у растений редиса (стрелкование, бутонизация, цветение, плодоношение) и изменяло структуру урожая семян — количество зрелых семян у СЮ МОТ уменьшалось вдвое, тогда как у ЗВ МОТ их количество увеличилось на 20%.
6. Биологический эффект магнитного поля на антиоксидантную систему является результатом сложного наложения многих разнонаправленных процессов. Они включают в себя как непосредственное физическое действие ПМП, идущее, вероятно, по нескольким механизмам, так и физиологический ответ растения, опосредованный через системы внутриклеточной сигнализации и регуляции, включая компенсационные реакции, направленные на восстановление гомеостаза.
7. Слабое ПМП является для растений экологически значимым фактором, модифицирующим ответ антиоксидантной системы на другие стрессовые факторы, что может играть решающую роль в выживании растений на ранних этапах развития, и приводить к изменению структуры урожая при длительных экспозициях.

Список публикаций

1. Новицкий Ю. И., Новицкая Г. В., Сердюков Ю. А. и др. Действие слабого постоянного магнитного поля на перекисное окисление липидов проростков редиса // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов / Под ред. А. Т. Епринцева. Воронеж: Центрально-черноземное книжное изд-во, 2010. Т. 12. С. 19–27.
2. Сердюков Ю. А., Новицкий Ю. И. Действие слабого постоянного магнитного поля на активность антиоксидантных ферментов у проростков редиса. // Физиология растений. 2013. Т. 60. С. 66–74.
3. Новицкий Ю. И., Новицкая Г. В., Молоканов Д. Р., Сердюков Ю. А. Развитие вегетативных и генеративных органов у магнитоориентационных типов редиса в слабом постоянном магнитном поле // Экология. 2014. (В печати).
4. Новицкий Ю. И., Новицкая Г. В., Сердюков Ю. А. и др. Действие слабого постоянного магнитного поля на перекисное окисление липидов проростков редиса // Биофизика. 2014. (В печати).

5. Сердюков Ю. А., Новицкий Ю. И. Динамика содержания пролина в прорастающих семенах редиса под действием слабого постоянного магнитного поля. // Тезисы докладов Международного Конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Санкт-Петербург, Россия: 2009. С. 90.
6. Сердюков Ю. А., Новицкий Ю. И. Некоторые закономерности действия слабого постоянного магнитного поля на антиоксидантную систему проростков редиса. // Тезисы докладов Всероссийского симпозиума «Растение и стресс». Москва, Россия: 2010. С. 317–318.
7. Новицкий Ю. И., Сердюков Ю. А. Зависимость содержания пролина и МДА в проростках редиса от напряженности слабого постоянного магнитного поля. // VII Съезд Общества физиологов растений России (тезисы докладов). Нижний Новгород, Россия: 2011. С. 626–627.
8. Сердюков Ю. А., Новицкий Ю. И. Действие слабого постоянного магнитного поля на антиоксидантные ферменты 5-дневных проростков редиса. // Тезисы докладов Международного Конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Санкт-Петербург, Россия: 2012. С. 60.
9. Сердюков Ю. А., Новицкий Ю. И. Зависимость активности антиоксидантных ферментов проростков редиса от величины индукции слабого постоянного магнитного поля. // IV Съезд биофизиков России (тезисы докладов). Нижний Новгород, Россия: 2012. С. 207.
10. Сердюков Ю. А., Новицкий Ю. И. Действие слабого постоянного магнитного поля на активность антиоксидантных ферментов проростков редиса // Всероссийская конференция «Инновационные направления современной физиологии растений» (тезисы докладов). Москва: 2013. С. 237.
11. Сердюков Ю. А., Новицкий Ю. И. Действие слабого постоянного магнитного поля на антиоксидантную систему проростков редиса. // X Международная конференция "Космос и биосфера"(тезисы докладов). Коктебель, Украина: 2013. С. 118–119.
12. Новицкий Ю. И., Новицкая Г. В., Сердюков Ю. А. и др. Действие слабого постоянного магнитного поля на развитие вегетативных и генеративных органов магнитоориентационных типов редиса // XIII Делегатский съезд Русского ботанического общества. Т. 3. Тольятти: 2013. С. 234–235.