

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРОРАСТАНИЕ И СИНТЕЗ ПИГМЕНТОВ У *RAPHANUS SATIVUS*.

Трофименко Я.В., Калинкевич О.В., Чиванов В.Д., Калинкевич А.Н.,
Данильченко С.Н.

Институт прикладной физики НАН Украины

ул. Петропавловская, 58, г. Сумы, 40000 Украина; e-mail: kalinkevich@gmail.com

Поступила в редакцию: 11.07.2020

Аннотация. В нашей работе были исследованы биометрические показатели и содержание фотосинтетических пигментов в проростках редиса (*Raphanus sativus* var. *radicula*), семена которого были обработаны растворами хитозана различной концентрации в различных органических кислотах (уксусная, аскорбиновая, молочная) с добавлением комплексного удобрения и рентгеновским излучением (характеристическое излучение Mo, ускоряющее напряжение 20 кВ, ток 1 мА). При этом всхожесть необлученных семян составила 50%, облученных в течение 20 мин – 80%, в течение 40 мин – 20%. Семена, обработанные 0,2% и 2% растворами хитозана в 1% уксусной и молочной кислотах, не взошли вовсе. Семена, обработанные 0,2% раствором хитозана в аскорбиновой кислоте и облученные, взошли, хотя всхожесть их была ниже – 10-20%. В тоже время в этих ростках обнаружена наибольшая концентрация фотосинтетических пигментов. Обработка семян минеральным удобрением с последующим высушиванием и облучением привела к снижению всхожести в опытных облученных вариантах – всхожесть составила 20 и 30% в зависимости от дозы (20 и 40 мин соответственно) при облучении после обработки; 30 и 40% при облучении до обработки. Всхожесть семян, инкрустированных 2% раствором хитозана в 2% аскорбиновой кислоте, составила 50%, облученных в различных дозах – 10%. Облучение семян в большинстве случаев приводит к снижению содержания основных фотосинтетических пигментов в проростках. Однако в случае использования минеральных удобрений и раствора хитозана в аскорбиновой кислоте в комбинации с облучением, напротив, приводит к повышению содержанию пигментов по сравнению с контролем.

Ключевые слова: рентгеновское излучение, радиационные технологии, хитозан, предпосевная обработка семян, *Raphanus sativus*.

Исследование действия радиационного излучения на биологические объекты является актуальным, так как в последние годы активно развиваются технологии с применением физических факторов, в частности, ионизирующего и неионизирующего излучений. Технологии облучения могут быть использованы для повышения урожайности, увеличения сроков хранения продукции, уничтожения патогенной микрофлоры и насекомых-вредителей, сокращения потерь при хранении плодов и овощей, удлинения сроков реализации продуктов, стерилизации рационов для армии и космонавтов и т.п. Применение технологий с использованием физических факторов базируется на междисциплинарных фундаментальных исследованиях на стыке физики, биологии, химии, сельскохозяйственных наук [1]. Действие излучения проявляется на всех уровнях внутриклеточного биосинтеза – синтеза и изменения активности ферментов, синтеза растительных пигментов и т.д. В последнее время большой интерес вызывает радиомодифицирующее действие различных биологически активных веществ [2]. Одним из таких радиомодификаторов может быть хитозан.

Хитозан – биологический полимер, получаемый деацетилированием хитина (компонента экзоскелетов ракообразных, насекомых, клеточной стенки грибов). Высокая биологическая активность хитозана, нетоксичность, биосовместимость, некоторые антибактериальные свойства способствуют широкому его использованию в биологии, медицине, сельском хозяйстве, в частности в растениеводстве для защиты от вредителей болезней, для стимуляции неспецифического иммунитета у растений, для регуляции роста и развития, повышения урожайности [3]. Поликатионная природа хитозана позволяет ему электростатически связываться с цитоплазматической мембраной, проникать в цитоплазму и ядро клетки, взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами. Препараты хитозана используют для предпосевной обработки семян [4-6], опрыскивания растений, внесения в почву. Хитозан экологически безопасен, так как распадается в образованием нетоксичного глюкозамина. В некоторых работах описано влияние хитозана на фотосинтетическую активность растений, в частности отмечено влияние хитозана на содержание фотосинтетических пигментов у растений хлопчатника на фоне вилта [7]. Это важно, поскольку фотосинтез в значительной мере определяет биопродуктивность растений, наряду с другими физиологическими и биохимическими процессами, экологическими условиями и агротехникой выращивания. На синтез пигментов у редиса определенное влияние оказывали гуматы [8]. Опрыскивание листы картофеля олигохитозаном (82,20 кДа) полученным из хитозана (337,73 кДа) путем применения γ -облучения 100 кГр, приводило к усилению роста, устойчивости к засухе, отмечалось также влияние на синтез фотосинтетических пигментов [9].

В последнее время способы предпосевной обработки семян получают широкое применение, так как с их помощью можно добиться более ранних всходов, стимулировать растение. Повышение жизнеспособности семян – важная практическая задача.

Редис – первый весенний, популярный и быстрорастущий овощ, активно выращивается в личных подсобных хозяйствах. Используется в биологических экспериментах на космических станциях. Однако выращивание этой культуры остается высокозатратным и низкопродуктивным как из-за несовершенных технологий возделывания, так и из-за биологических особенностей: растянутые сроки появления всходов, сильная зависимость от агроклиматических условий, недостаточная выравненность всходов, низкие темпы роста и развития растений на начальных этапах онтогенеза, поражение грибами и насекомыми [10]. Поэтому важен поиск способов эффективного влияния на эти процессы. Открытый вопрос – влияние различных стимуляторов на редис. Например, предпосевная обработка семян продуктами переработки, полученными в результате гидролиза радиационно обработанного (100 кГр) сырья (ППГРОС) при производстве биотоплива (смесь органических кислот) у редиса приводила к повышению урожайности на 27-84% [11].

В нашей работе были исследованы биометрические показатели и содержание фотосинтетических пигментов в проростках редиса (*Raphanus sativus var. radiculara*), семена которого были обработаны растворами хитозана различной концентрации в различных органических кислотах (уксусная, аскорбиновая, молочная) с добавлением комплексного удобрения и рентгеновским излучением.

Для обработки были использованы коммерческие семена редиса (красный с белым кончиком). Обработку проводили согласно Табл. 1. Для каждого варианта обработки использовали по 10 шт. семян.

Облучение семян проводили в медицинских шприцах, помещенных в установку для рентгеновского облучения (характеристическое излучение Mo, ускоряющее напряжение лампы 20 кВ, ток 1 мА). Время экспонирования 20 и 40 мин.

0,2%-ные растворы хитозана в 1% кислотах использовали для замачивания семян, 2%-ные вязкие растворы – для формирования пленки на семенах (инкрустация). Контрольные семена обрабатывались только комплексным удобрением. Растворы для замачивания (К, Х31, Х32, Х33) и инкрустации (Х34, Х35, Х36), где К – удобрение¹ 5 мл/л + 500 мг борной кислоты.

Х31 – К+0,2% хитозан (300 кДа) + 0,5% уксусная кислота,

Х32 – К + 0,2% хитозан+ 1% аскорбиновая кислота,

Х33 – К+0,2% хитозан каротин+0,5% уксусная кислота,

Х34 – К +2% хитозан +1% уксусная кислота,

Х35 – К+2%хитозан +2% аскорбиновая кислота,

Х36 – К+ 2% хитозан каротин+1% уксусная кислота.

Хитозан каротин – 2,2 г хитозана+20 мг каротина + несколько капель этилового 96% спирта растирали в ступке до испарения спирта. Замачивали на 3 ч, инкрустация 30 мин с последующим высушиванием в сушильном шкафу при 60 °С.

Обработанные различными способами семена высаживались в контейнеры. Фиксировалось время прорастания семян, длина ростков. Для определения содержания пигментов использовали спектрофотометрический метод (спектрофотометр «Spekol-1500») [12].

Таблица 1. Схема экспериментов и маркировка образцов

Облучение	Замачивание				Инкрустация			
	К	Х31	Х32	Х33	К1	Х34	Х35	Х36
1. Без облучения	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.
Обработка после облучения семян								
2. 20 мин	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.
3. 40 мин	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.
Обработка до облучения								
4. 20 мин	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.
5. 40 мин	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.

¹ Состав удобрения: азот (NH₄ +NO₃) 8%, фосфор (P₂O₅) 5%, калий (K₂O) 5%, янтарная кислота 2 г/л, микроэлементы MgO 1 г/л, В 1 г/л, Fe 0,5 г/л, Zn 0,2 г/л, Mn 0,4 г/л, Mo 0,02 г/л, Co 0,1 г/л, аминокислоты глицин 150 мг/л, аргинин 30 мг/л, триптофан 40 мг/л, ауксины 130 мг/л, гибберелины 18 мг/л, цитокинины 35 мг/л, витамины В1 25 мг/л, В2 35 мг/л, В6 70 мг/л, РР 80 мг/л.

Таблица 2. Всхожесть и биометрические показатели ростков редиса после различной предпосевной обработки

Вариант обработки	Всхожесть, %	Средняя длина ростков, см	Средняя масса одного ростка
1К	50	2,3	0,0118
1К1	70	3,5	0,01
2К	80	3,4	0,0137
2К1	20	4	0,01675
3К	20	2,7	0,01275
3К1	30	2	0,01
4К	40	2,6	0,01238
4К1	30	2,8	0,0108
5К	30	3	0,0082
5К1	40	3	0,01425
1X35	50	3,2	0,0137
2X32	10	4	0,0105
2X35	10	1,5	0,01
3X32	20	1,4	0,0075
3X35	10	4	0,0115
4X32	20	1,5	0,00875
4X35	10	2,5	0,01

Наблюдалось прорастание всех контрольных вариантов. При этом всхожесть необлученных семян составила 50%, облученных в течение 20 мин – 80%, в течение 40 мин – 20%. Семена, обработанные 0,2% и 2% растворами хитозана в 1% уксусной и молочной кислотах, не взошли вовсе. Семена, обработанные 0,2% раствором хитозана в аскорбиновой кислоте и облученные, взошли, хотя всхожесть их была ниже – 10-20%. В тоже время, в этих ростках обнаружена наибольшее содержание фотосинтетических пигментов. Обработка семян минеральным удобрением с последующим высушиванием и облучением привела к снижению всхожести в опытных облученных вариантах – всхожесть составила 20 и 30% в зависимости от дозы (20 и 40 мин соответственно) при облучении после обработки; 30 и 40% при облучении до обработки. Всхожесть семян, инкрустированных 2% раствором хитозана в 2% аскорбиновой кислоте, составила 50%, облученных в различных дозах – 10%.

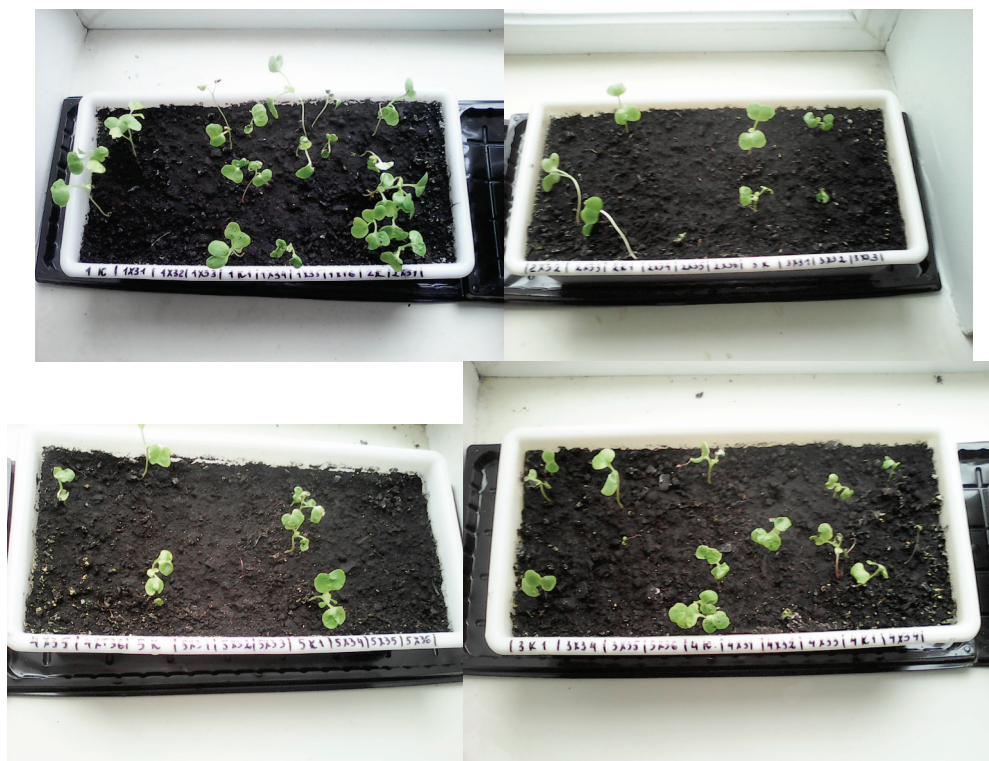


Рисунок 1. Растения редиса на 20-й день

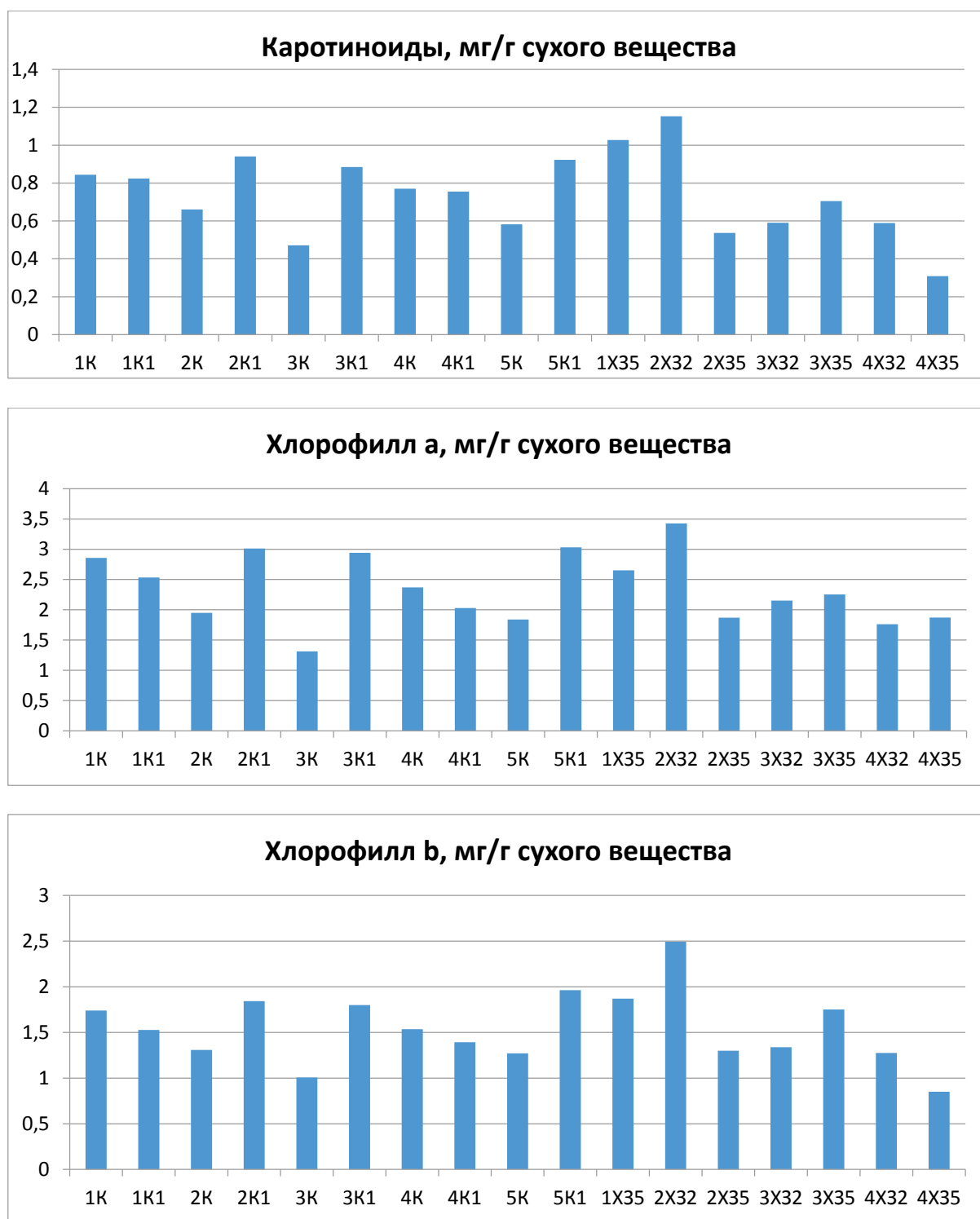


Рисунок 2. Содержание фотосинтетических пигментов в ростках редиса после различной предпосевной обработки

Облучение семян в большинстве случаев приводит к снижению содержания основных фотосинтетических пигментов в проростках. Однако в случае использования минеральных удобрений и раствора хитозана в аскорбиновой кислоте в комбинации с облучением, напротив, приводит к повышению содержанию пигментов по сравнению с контролем.

Список литературы / References:

1. Кудряшов Ю.Б. *Радиационная биофизика (ионизирующие излучения)*. М. Физматлит, 2004, 448 с. [Kudryashov Yu.B. *Radiation biophysics (ionizing radiations)*. М.: Fizmatlit, 2004, 448 p. (In Russ.)]
2. Журавская А.Н., Воронов И.В., Поскачина Е.Р., Слепцов И.В. Влияние гамма-облучения и лиофилизата шрицы запрокинутой на фотосинтез проростков пшеницы. *Наука и образование*, 2015, № 3. [Zhuravskaya A.N.,

Voronov I.V., Poskachina Ye.R., Sleptsov I.V. The influence of gamma-irradiation and lyophilizate of green amaranth on the photosynthesis in wheat sprouts. *Nauka i obrazovanie*, 2015, vol. 3. (In Russ.)]

3. Морозова Е.А. Эколого-биологическая оценка действия хитозановых препаратов на сельскохозяйственные культуры. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Барнаул, 2011. [Morozova Ye.A. *Ecologo-biological estimation of the effect of chitosan preparations on the agricultural plants, Abstract of PhD thesis*, Barnaul, 2011. (In Russ.)]

4. Mahdavi B., Rahimi A. Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan (*Carum copticum*) under salt stress. *Eurasian Journal of Biosciences*, 2013, vol. 7. DOI: 10.5053/ejobios.2013.7.0.9.

5. Defang Zeng, Xinrong Luo, Renjie Tu Application of bioactive coatings based on chitosan for soybean seed protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2012, Article ID 104565. DOI: 10.1155/2012/104565.

6. Martínez González L., Reyes Guerrero Y., Falcón Rodríguez A., Núñez Vázquez M. Effect of seed treatment with chitosan on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings cv. INCA LP-5 in saline medium. *Cultivos Tropicales*, 2015, vol. 36, no. 1, pp. 136-142.

7. Акиншина Н.Г., Рашидова Д.К., Азизов А.А. Капсулирование семян препаратами хитозана и его производных восстанавливает фотосинтез у растений хлопчатника (*Gossypium* L., 1753) на фоне вилта. *Сельскохозяйственная биология*, 2016, т. 51, № 5, с. 696-704. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.5.696rus. [Akinshina N.G., Rashidova D.K., Azizov A.A. Incapsulation of seeds with the preparations of chitosan and its derivatives restores the photosynthesis in cotton plants (*Gossypium* L., 1753) under wilt. *Selskokhozyaystvennaya biologiya*, 2016, vol. 51 (5), pp. 696-704. (In Russ.)]

8. Борисенко В.В., Жолобова И.С. Изучение влияния обогащенного биогумата «Экокс» на работу фотосинтетического комплекса растений редиса. *Научный журнал КубГАУ*, 2015, № 107 (03). [Borisenko V.V., Zholobova I.S. Investigation of the influence of the enriched biohumate “Ekoss” on the photosynthetic complex of radish plants. *Nauchnyy zhurnal KubGAU*, 2015, vol. 107 (03). (In Russ.)]

9. Muley A.B., Shingote P.R., Patil A.P., Dalvi S.G., Suprasanna P. Gamma radiation degradation of chitosan for application in growth promotion and induction of stress tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Carbohydrate Polymers*, 2019, vol. 210, pp. 289-301. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.01.056.

10. Марьяина-Чермных О.Г., Евдокимова М. А. Эффективность нового способа посева и предпосевной обработки семян редиса. *Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки»*, 2015, № 4. [Maryina-Chermnykh O.G., Yevdokimova M.A. Effectiveness of a new method of sowing and presowing treatment of radish seeds. *Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta, Seria “Selskokhozyaystvennyye nauki. Ekonomicheskie nauki”*, 2015, vol. 4. (In Russ.)]

11. Лой Н.Н., Санжарова Н.И., Кузнецов А.А., Молин А.А., Винокуров В.А. Эффективность предпосевной обработки семян сельскохозяйственных культур продуктами переработки, полученными в результате радиационных технологий. *Достижения науки и техники АПК*, 2015, т. 29, № 5, с. 29-32. [Loy N.N., Sanzharova N.I., Kuznetsov A.A., Molin A.A., Vinokurov V.A. Effectiveness of presowing treatment of seeds of agricultural plants with radiation technology processing products. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, 2015, vol. 29 (5). (In Russ.)]

12. Кудряшов А.П. *Физиология растений. Лабораторный практикум*. Минск: БГУ, 2011, 76 с. [Kudryashov A.P. *Plant physiology. Laboratory practice*. Minsk, BGU, 2011, 76 p. (In Russ.)]

THE INFLUENCE OF X-RAY IRRADIATION ON GERMINATION AND SYNTHESIS OF PIGMENTS IN
RAPHANUS SATIVUS

Trofimenko Ya.V., Kalinkevich O.V., Chivanov V.D., Kalinkevich A.N., Danilchenko S.N.

Institute of applied physics, NAS of Ukraine

Petropavlovska St. 58, Sumy, 40000, Ukraine; e-mail: kalinkevich@gmail.com

Abstract. In our work, we studied the biometric indicators and the content of photosynthetic pigments in radish seedlings (*Raphanus sativus* var. *Radicula*), the seeds of which were treated with solutions of chitosan of various concentrations in various organic acids (acetic, ascorbic, lactic) with the addition of complex fertilizer, and X-ray radiation (characteristic Mo radiation, accelerating voltage 20 kV, current 1 mA). In this case, the germination rate of unirradiated seeds was 50%, irradiated for 20 min - 80%, for 40 min - 20%. Seeds treated with 0.2% and 2% solutions of chitosan in 1% acetic and lactic acids did not germinate at all. Seeds treated with a 0.2% solution of chitosan in ascorbic acid and irradiated, sprouted, although their germination was lower - 10-20%. At the same time, the highest concentration of photosynthetic pigments was found in these sprouts. Seed treatment with mineral fertilizer followed by drying and irradiation led to the decrease in germination in the experimental irradiated variants: germination was 20% and 30% depending on the dose (20 and 40 min, respectively) when irradiated after treatment; 30 and 40% when irradiated before treatment. The germination rate of seeds inlaid with a 2% solution of chitosan in 2% ascorbic acid amounted to 50%, irradiated in various doses - 10%.

Irradiation of seeds in most cases leads to a decrease in the content of the main photosynthetic pigments in seedlings. However, in the case of using mineral fertilizers and a solution of chitosan in ascorbic acid in combination with irradiation, on the contrary, it leads to an increase in the content of pigments in comparison with the control.

Key words: X-ray radiation, radiation technology, chitosan, seed treatment, *Raphanus sativus*.