

2. Одним із способів використання забруднених територій може бути вирощування лікарських рослин. Порівняння цитостатичної активності різних органів рослин, які вирощувалися на відносно чистих (Біостанція «Татарка») [5] та забруднених (с. Ноздрище) територіях свідчить, що при виявлених рівнях радіоактивного забруднення цитостатична активність сировини лікарських рослин не змінюється. Отже, вирощування досліджуваних видів рослин на забруднених територіях не впливає на їх алелопатичну та мітогенну активність і ці рослини можуть культивуватися на територіях забруднених Цезієм при щільності забруднення ґрунтів, що не перевищує 780 кБк/м<sup>2</sup> та в подальшому можуть використовуватися як лікарська сировина.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Двадцять років після Чорнобильської катастрофи. Погляд у майбутнє: Національна доповідь України. – К.: Атіка, 2006 – 216 с.
2. Допустимі рівні вмісту радіонуклідів <sup>137</sup>Cs та <sup>90</sup>Sr у продуктах харчування та питній воді: гігієнічний норматив. Наказ МОЗ України. 2006. – 18 с.
3. Гродзинський А.М. Лікарські рослини: Енциклопедичний словник-довідник. – К., 1992. – 543 с.
4. Иванов В. Б., Быстрова Е. Н., Дубровский В. Г. Проростки огурца как тест-объект для обнаружения эффективных цитостатиков // Физиология растений, 1986. – т. 33, вып. 1. – 95 с.
5. Мегалинская А.П., Афанасьева И.Ф., Даниленко С.В. Особенности накопления тяжелых металлов в сырье некоторых лекарственных растений на биостанции «Татарка»./Промышленная ботаника. Сборник научных трудов. – Донецк: Донецкий ботанический сад НАН Украины, – 2005. – С. 110-116.

**Megalinska A. P., Dewiere N. R.**

## CULTIVATION OF SOME HERBS ON THE RADIOACTIVELY CONTAMINATED TERRITORIES

Cultivation of some herbs on the radioactively contaminated territories and their citostatic properties were studied under field condition. The experiment was carried out on the territory abandoned due to high radioactive contamination in Zhytomyr region. Our results shown that investigated plants can be ordered as follow: *L. anisatus* > *S. alba* ≥ *B. napus* by the intensivity of <sup>137</sup>Cs accumulation. Concentration of radionuclide in vegetative part and seeds of herbs accords to the requests of permissible levels. Comparison of plants cultivated on relatively clean (biostation “Tatarka”) and contaminated (Nozdryshche) areas, demonstrate that citostatic activity does not depend on contamination. Therefore, investigated herbs can be cultivated on the contaminated lands and can be used for medical purpose.

Надійшла 28.01. 2008 р.

УДК 581.526.52:633.15: 54-39

**Ю. А. Скиба, І. В. Ушакова**

Національний педагогічний університет  
імені М.П. Драгоманова,  
вул.Пирогова, 9, м. Київ, 01601

## ЗАСОЛЕННЯ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА РІВЕНЬ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ В КОРЕНЯХ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ

*Засолення, стрес-фактор, пероксидне окиснення, проростки коренів кукурудзи*

Засолені ґрунти займають близько третини всіх земельних ресурсів світу, що значно обмежує збільшення площі під сільськогосподарськими угіддями [7]. Це пов'язано з тим, що засолення є

одним з основних стресових агентів для рослин, який призводить до певних фізіологічних і біохімічних змін в організмі рослин, наслідком чого є уповільнення їх росту.

Проблемами стресових реакцій рослин на молекулярно-клітинному рівні займалися В.А. Барабой [1], Ю.С.Колупасв [5], Б.П.Строгонов [11], Г.В.Удовенко [13]; стійкість рослин до сольового стресу розглядали Ю.А. Владімірова [4], Т.О.Палладіна [8] О.Л.Франко, Ф.Р. Мело [14], М. Shigeto та ін. [15], E. Warm, G. Laties [16]; способи захисту рослин від негативного впливу засолення розробляли Т.О.Палладіна, Н.В.Беляєва, С.П.Пономаренко, В.П.Кухарь [6-9], В.О.Міттова, А.У.Ігамбердієв [7], В.М.Троян та ін [12].

Тривалий час основною причиною пригнічення росту і розвитку рослин вважалась осмотична дія солей – більш низький, порівняно з ґрунтовим розчином, осмотичний тиск в клітинах кореня рослин, і, у зв'язку з цим, так звана, «фізіологічна посуха», а також необхідність додаткових витрат на підтримання градієнтів електричних потенціалів, що призводить до збільшення інтенсивності дихання та фотосинтезу [8].

На сучасному етапі визначним є погляд про комплексний вплив солей на кореневе живлення рослин, який складається принаймні з трьох компонентів: осмотичного – виражається у зниженні поглинання води кореневими волосками; токсичного – пов'язаний з накопиченням іонів у цитоплазмі; і специфічного – цей компонент визначає різноякісну дію аніонів, що виражається в фізіологічних змінах в організмі рослини [8].

Одним з показників стресового стану на молекулярному рівні є зміщення прооксидантно-оксидантної рівноваги в бік збільшення концентрації активних форм кисню (АФК) в клітині. До активних форм кисню належать супероксид радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ), гідроксильний радикал ( $OH^{\cdot}$ ), пероксид гідрогену ( $H_2O_2$ ), синглетний кисень ( $O_2^{\cdot}$ ), що утворюються внаслідок одноелектронного відновлення кисню і є метаболітами багатьох біохімічних перетворень в клітині. АФК характеризуються високим окисним потенціалом і здатністю до швидких перетворень, тому вони можуть індукувати ланцюгові реакції [3].

Живі клітини мають систему захисту від підвищеної продукції вільних радикалів, яка включає ферментативні компоненти: супероксиддисмутазу (СОД), ферменти аскорбат-глутатіонового циклу: аскорбатпероксидазу (АСК), глутатіон-S-трансферазу/ глутатіон -пероксидазу (ГСТ/ГПК), неферментативні – флавоноїди, антоціани, каротиноїди, аскорбінова кислота тощо. Такої системи захисту цілком достатньо за нормальних фізіологічних умов існування рослинних організмів.

В живих системах підтримується прооксидантно-оксидантна рівновага. Повне пригнічення пероксидних процесів в тканинах, мабуть, недоцільне, адже вільні радикали до певної міри є корисними. Вони індукують апоптоз, беруть участь у формуванні клітинного імунітету. Утворення гідроперекисів жирнокислотних ланцюгів поліненасичених фосфоліпідів пошкоджують бішар мембран і стимулюють роботу фосфоліпаз, що посилює вивільнення жирних кислот зі складу мембранних ліпідів. Проте, інші структури, такі як нуклеїнові кислоти та білки, потерпають від розвитку пероксидного окиснення як безпосередньо, так і за рахунок впливу на них активних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ).

## Матеріал і методика досліджень

Дослідження впливу рівня засолення на інтенсивність пероксидних процесів в коренях проростків кукурудзи, зокрема на вміст пероксиду гідрогену, проводилося нами у 2003-2005 рр. на базі Інституту ботаніки імені М.Г.Холодного НАН України.

Одним з методів дослідження рівня пероксидного окиснення є метод люмінолзалежної хемілюмінісценції. В основі процесу хемілюмінісценції (ХЛ) є перетворення в хімічному процесі частини хімічної енергії в енергію збуджених продуктів реакції, якщо хоча б частина активів дезактивації збудження частинок відбувається шляхом випромінювання. Можливість перетворення хімічної енергії в енергію випромінювання залежить від типу реакції, її теплового ефекту, будови і властивостей реагентів, продуктів і середовища [2,3].

Рослинні тканини випромінюють світло у видимій частині спектру дуже низької інтенсивності. Для його збудження не потрібне попереднє опромінення [5]. При вивченні ХЛ рослинних тканин була показана залежність інтенсивності ХЛ від інтенсивності обмінних процесів в рослинних тканинах.

Дослідження проводили на проростках кукурудзи (*Zea mays* L.) гібриду Колективний 225 МВ, що зростали у водній культурі на поживному середовищі Хогланда при  $t+24^{\circ}C$  при 16-годинному

світловому дні (освітлення люмінесцентними лампами 50 Вт/м<sup>2</sup>) протягом 7 діб. Сольовий стрес середньої сили створювали додаванням до середовища 0,05 моль і 0,1 моль NaCl на 1 літр та експонуванням проростків 1 та 10 діб.

Морфометричні показники – довжина та вага коренів і надземної частини – встановлювали лінійно-ваговим методом. Вміст пероксиду гідрогену визначали люмінозалежною хемілюмінесценцією за допомогою медичного хемілюмінометра ХЛМ 1Ц – 01 з фотоелектропомножувачем ФЕП – 130.

Для хемілюмінесцентних досліджень одержували гомогенати коренів та листків шляхом гомогенізації 5г замороженого нарізаного матеріалу у 20 мл охолодженої 5% трихлороцтової кислоти (ТХО). Для внутрішньої стандартизації 1 і 5μМ пероксиду гідрогену додавали в паралельний зразок і до 25 мл 5% ТХО без рослинного матеріалу. Екстракт центрифугували 30 хв. при 12 тис г. 1 мл супернатанта пропускали крізь колонку 0,7×4 см, заповнену 200 мг Dowex (AG 1×2, Bio-Rad 200-400) 2 рази. Цей етап видаляє більшість забарвлених компонентів з екстракту. Стандарт і пусту пробу готували відповідно. Кількість пероксиду в екстракті і стандартах перевіряли внесенням 100μl тестованого розчину в 100μl 0,5 мМ люмінолу в 0,2М NH<sub>4</sub>OH (рН 9,5). Кювети вміщували у вимірювальні гнізда фотометра, ХЛ ініціювали вприскуванням 200μl 0,5 мМ розчину K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] в 0,2 М NH<sub>4</sub>OH. Емісію фотонів визначали протягом 15 с пульсінтегратором ( крок хемілюмінометра 2,0 ). Специфічність ХЛ реакції на пероксид гідрогену перевіряли додаванням 500 одиниць каталази до 1 мл знебарвленого екстракту ( в буфері Тріс–HCl рН 7,0). Інкубували 10 хв при 30°C після чого вимірювали ХЛ. Різницю між двома вимірюваннями розглядали як H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-специфічну ХЛ (ΔХЛ).

Для компенсації будь-якого розкладання або накладання ХЛ інших компонентів фіксовану кількість пероксиду гідрогену додавали до аліквоти як внутрішній стандарт. Різниця між ХЛ екстракту і ХЛ екстракту зі стандартом (1μМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ) відображала чисту ХЛ; відновлення доданого H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> по відношенню до стандарту (без рослинного матеріалу) вираховувалась математично [2,3]. Одержані дані оброблені статистично і перевірені за критерієм Ст'юдента (p<0,05).

### Результати дослідження та їх обговорення

Морфометричне дослідження проростків кукурудзи експонованих на поживному середовищі Хогланда в присутності різних концентрацій NaCl (0,05 моль/л і 0,1 моль/л) наведені в таблиці 1.

*Таблиця 1.*

Ростові показники проростків кукурудзи при їх експозиції на різних концентраціях NaCl (M±m; n=120, p<0.05)

Варіанти	Довжина, см		Маса, г	
	Корені	Надземна частина	Корені	Надземна частина
1 – добова експозиція				
Контроль	9,3±0,1	9,4±0,2	0,09±0,01	0,20±0,01
0,05M NaCl	9,3±0,1	8,5±0,2	0,09±0,01	0,20±0,01
0,1M NaCl	9,0±0,1	8,0±0,2	0,09±0,02	0,18±0,01
10 – добова експозиція				
Контроль	18,7±0,5	21,1±0,5	0,22±0,03	0,62±0,01
0,05M NaCl	17,9±0,3	18,4±0,3	0,22±0,01	0,44±0,02
0,1M NaCl	16,6±0,4	13,0±0,2	0,21±0,03	0,21±0,06

Результати дослідження, свідчать про те, що при однодобовій експозиції спостерігаються незначні зміни в довжині коренів, тоді як довжина надземної частини зменшується на 10% за

присутності 0,05M NaCl та на 15% - 0,1M NaCl. На масу коренів та надземної частини однодобова сольова експозиція не впливає.

Продовження сольової експозиції до 10 діб призводило до зниження ростових показників проростків. Так, при експонуванні на 0,05M NaCl довжина коренів зменшується на 4%, надземної частини на 13%, а при експонуванні на 0,1M NaCl – відповідно на 11% та 38%. Десятидобова сольова експозиція проростків не впливає на масу коренів, тоді як маса надземної частини зменшується на 29% при наявності 0,05M NaCl та на 66% - при 0,1M NaCl.

Аналіз вмісту пероксиду гідрогену в гомогенатах коренів проростків кукурудзи при їх експозиції на різних концентраціях NaCl (рис.1) свідчить, що експозиція проростків кукурудзи протягом 1 доби на поживному середовищі Хогланда в присутності 0,05M NaCl призводить до підвищення вмісту пероксиду гідрогену в гомогенатах коренів на 78% відносно контролю, тоді як в присутності 0,1M NaCl – до зниження його вмісту на 40% .

Подальша експозиція проростків кукурудзи протягом 10 діб на поживному середовищі Хогланда в присутності 0,05M NaCl призводить до незначного зниження вмісту пероксиду гідрогену в гомогенатах коренів (4% відносно контролю), тоді як присутність 0,1M NaCl призводить до зниження його продукування на 44% відносно контролю. Вміст пероксиду гідрогену в гомогенатах коренів 18-добових проростків кукурудзи зменшується на 67% в порівнянні з 8-добовими в контрольному варіанті. Крім того, встановлено, що вміст пероксиду гідрогену в листках проростків кукурудзи значно вищий ніж в коренях.

В листках 8-добових проростків кукурудзи, що експонувались протягом 1 доби на середовищі, яке містить 0,05 моль NaCl, продукування пероксиду гідрогену відбувається на 47% активніше, ніж в контрольному варіанті. Водночас в листках проростків кукурудзи, що експонувались протягом 1 доби на середовищі, яке містить 0,1 моль NaCl спостерігається на 39% пероксиду гідрогену більше, ніж у контрольному варіанті.

Продовження експозиції проростків кукурудзи до 10 діб в середовищі, яке містило 0,05 моль NaCl, призводить до підвищення концентрації пероксиду гідрогену в гомогенатах листків на 54% в порівнянні з контрольним варіантом. Водночас, експозиція проростків кукурудзи на середовищі, яке містить 0,1 моль NaCl, призводить до підвищення концентрації пероксиду гідрогену на 42%, в порівнянні з контрольним варіантом.

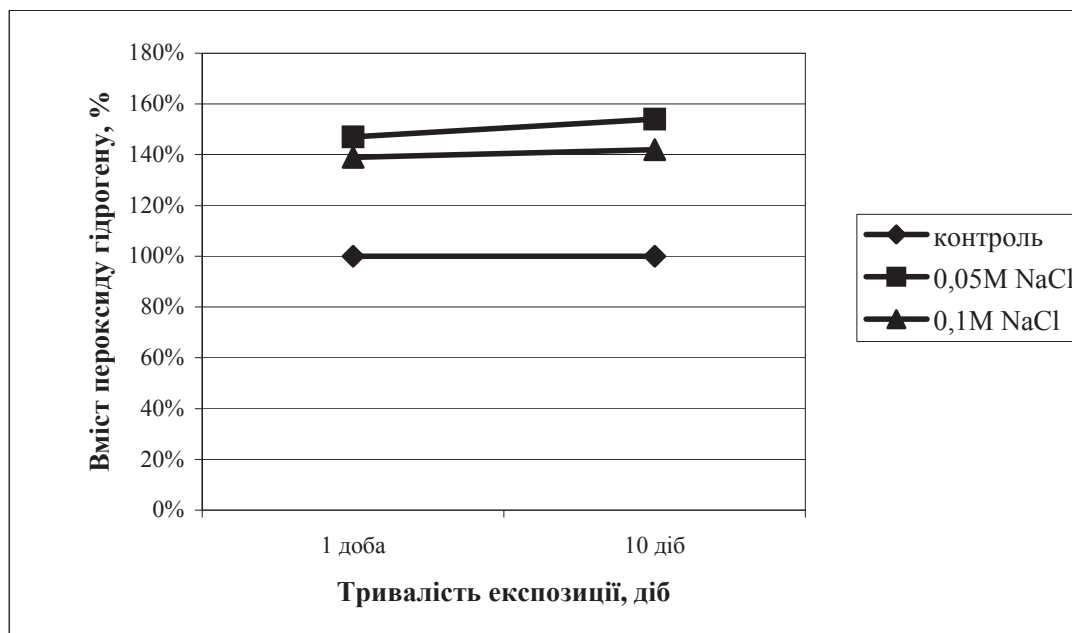


Рис. 1. Вміст пероксиду гідрогену в гомогенатах коренів проростків кукурудзи при їх експозиції на різних концентраціях NaCl

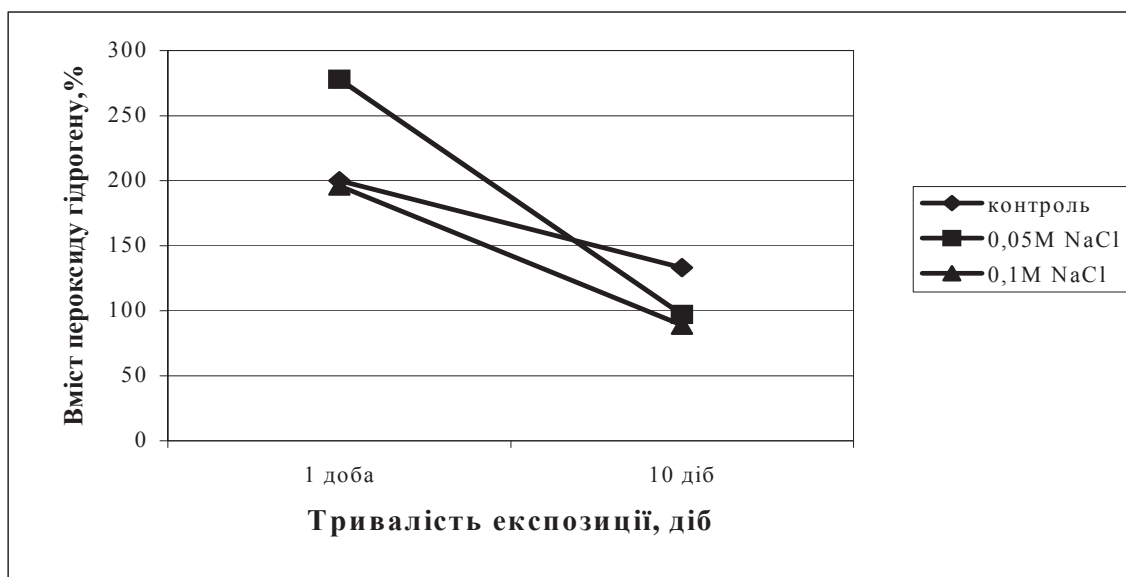


Рис. 2. Вміст пероксиду гідрогену в гомогенатах листків проростків кукурудзи при їх експозиції на різних концентраціях NaCl

Визначення морфометричних показників проростків кукурудзи виявило пригнічення росту надземної частини і меншою мірою коренів. Виходячи з цього, можна припустити, що сольовий стрес, насамперед, пригнічує процеси життєдіяльності надземної частини проростків кукурудзи.

Корені меншою мірою страждають від впливу стресових факторів. Водночас, маса коренів практично не змінюється при зменшенні їх розмірів, що, мабуть, пов'язане з накопиченням у вакуолях клітин коренів надлишкових іонів, зокрема  $\text{Na}^+$ . Для рослини це є одним з механізмів захисту від надмірної кількості солей [7].

Визначення вмісту пероксиду гідрогену в проростках кукурудзи показало зменшення його концентрації в 10-добових проростках відносно 1-добових в усіх варіантах, що напевне, пов'язано зі старінням проростків і, відповідно, зменшенням інтенсивності обмінних процесів.

В гомогенатах коренів однодобових проростків концентрація пероксиду гідрогену значно збільшується в тих проростках, які експонуються на середовищі Хогланда в присутності 0,05M NaCl і зменшується – в присутності 0,1M NaCl. Це дає підстави припустити, що в першому випадку має місце фаза первинної стресової реакції, для якої характерне посилення обмінних реакцій із зсувом в бік активізації процесів дисиміляції, підвищення концентрації продуктів метаболізму, і, зокрема, пероксиду гідрогену. В другому випадку можливо припустити фазу адаптації, в якій спостерігається зниження активності метаболізму і підтримання його на відносно низькому стабільному рівні. Фаза первинної стресової реакції, як показують попередні дослідження [6], спостерігається в перші години дії стресового фактора (0,1M NaCl).

### Висновки

Отже, сольовий стрес різної інтенсивності призводить до фізіолого-біохімічних змін в коренях та надземній частині проростків кукурудзи, тим самим пригнічуючи їх життєдіяльність. Проте на початковій фазі розвитку він посилює обмінні реакції із зміщенням процесів дисиміляції у бік активізації, підвищення концентрації продуктів метаболізму, зокрема, пероксиду гідрогену, що пов'язано з високою проникністю клітинних оболонок проростків. Спостерігаючи за змінами вмісту АФК в коренях проростків кукурудзи, можна судити про ступінь стресового стану рослин.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов. // Успехи современной биологии. – 1991. – Т.111, Вып. 6.– С.923-931.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: учебник. 3-е изд. перераб. и доп. – М.: Медицина, 2002. – 704 с.
3. Веселовский В.А., Веселова Т.В. Люминисценция растений: Теоретические и практические аспекты. – М.: Наука, 1990. – 200 с.

4. Владимиров Ю.А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран. //Биофизика.–1987.–Т.32, Вип.5. – С.830-844.
5. Колупасв Ю.Є. Стресові реакції рослин (молекулярно-клітинний рівень) /Харк. держ. аграр. ун-т. – Харків, 2001.– 173 с.
6. Куриленко І.М., Палладіна Т.О. Вплив регуляторів росту на процеси пероксидного окислення у проростках кукурудзи за умов сольового стресу. // Український біохімічний журнал. – 2001. – Т.73, №6. – С.56-60.
7. Миттова В.О., Игамбердиев А.У. Влияние солевого стресса на дыхательный метаболизм высших растений. // Известия РАН. Серия биологическая.– 2000. – №3, -С.322-328.
8. Палладіна Т.А. Роль протонних насосов плазмалеммы и тонопласта в устойчивости растений к солевому стрессу. // Успехи современной биологии.–1999.– Т.119, №5.– С.451-461
9. Палладіна Т.А. Беляева Н.В., Пономаренко С.П., Кухарь В.П. Влияние регулятора роста ивина на активность Н<sup>+</sup>- АТФазы плазматических мембран клеток корней кукурузы // Докл. АН УССР.– 1991.– №10. – С.154- 156.
- 10.Пономаренко С.П., Николаенко Т.К., Троян В.М. и др. Регуляторы роста растений. – К.: Наук. думка, 1992. – 178 с.
- 11.Строгонов Б.П. Метаболизм растений в условиях засоления. – М.: Наука. 1973.–274 с.
- 12.Троян В.М., Яворська В.К., Пономаренко С.П., Миколаенко Т.К. Теоретичні основи застосування регулятора росту 2,6-диметилпіридин-М-оксиду в рослинництві // Физиология и биохимия культ. растений. – 1991. –Т.23, №5. –С.468 - 473.
- 13.УдовенкоГ.В. Механизмы адаптации растений к стрессам. // Физиология и биохимия культурных растений. – 1979. –Т.11, №2. –С.99-107.
- 14.Франко О.Л., Мело Ф.Р. Осмопротекторы. // Физиология растений. – 2000. –Т.47, №1. – С. 152-159.
- 15.Shigeto Morita, Hironori Kaminaka, Takehiro Masumura and Kunisuke Tanaka.Induction of Rice Cytosolic Ascorbate Peroxidase mRNA by Oxidative stress Signalling. // Plant Cell Physiol. –1999. – V.40 (4). – P.417-422.
- 16.Warm E. and Laties G.G. Quantification of hydrogen peroxide in plant extracts by the chemiluminescence reaction with luminol. // Phytochemistry.–1982.– V.21, №4. – P.827-831.

**Skyba Yu., Ushakova I.**

## **THE SALTING AND ITS INFLUENCE FOR THE LEVEL OF PEROXIDE OXIDIZING IN ROOTS OF MAIZE SPROUTS**

The investigation testifies that salting stress causes the physiological and biochemical changing in plants and depresses their vitality. On the initial phase of plants development an increase of products concentration of metabolism is observed, among their number the peroxide of hydrogen, that is connected with a high penetrating of cellular's capsules on various stages but from now on the activity of metabolism is reducing as a result of getting old of cellular's.

Надійшла 25.01.2006 р.