

P. pallasiana and *P. sylvestris* growing in industrial ecotopes of Krivbass, especially in seeds of plants, growing in ore-mining dump.

In general, the offspring *P. sylvestris* in plantations of Kryvorizhzhya found higher levels of cytogenetic abnormalities in comparison with *P. pallasiana*. One distinctive feature of the *P. sylvestris* i *P. pallasiana* from all four examined stands is the higher frequency of chromosomal aberrations compared to the frequency of mitosis pathologies.

Thus, in the meristematic tissue cells of the seed descendants of *P. sylvestris* and *P. pallasiana* from the stands in the Krivoy Rog region, serious changes in the activity of the nucleolar organizer are observed and the proportion of cells with pathology mitosis and chromosomal aberrations is considerably increased. Environmental pollution encourages increased cytogenetic abnormalities in the seed descendants of *P. sylvestris* and *P. pallasiana* from the stands exposed to emissions from metallurgical works and growing on the iron ore dump in Krivoy Rog. The above enumerated indicators of pines trees and their geniture are acceptable as test indexes for the indication of technogenic environmental pollution.

Key words: Pinus sylvestris; P. pallasiana; seeds; seedlings; cytogenetic changes; Krivoy Rog region

Рекомендує до друку

Надійшла 12.12.2017

В. В. Грубінко

УДК: 577.39 [58.084.1]: 577.346: 574.24: 577.121: 577.126

¹С. В. ЛІТВИНОВ, ¹М. В. КРИВОХИЖА, ²В. М. КУХАРСЬКИЙ, ¹Н. М. РАШИДОВ

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України
вул. Академіка Заболотного, 148, Київ, 03143

²Державна установа «Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України»
вул. Вишгородська, 67, Київ, 04114

ЗМІНИ НЕПІГМЕНТНИХ СПОЛУК У ЛИСТКАХ ОПРОМІНЕНИХ РОСЛИН *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) НЕУНН

Дія радіації на рослини часто викликає структурно-метаболичні зміни, що проявляються через тривалий проміжок часу після опромінення. З метою вивчення змін у складі непігментних сполук асимілюючого органу рослин – листка, використали метод інфрачервоної спектроскопії Фур'є (FTIR). На основі аналізу FTIR-спектрограм ліофілізованих розеткових листків модельної рослини *Arabidopsis thaliana* (L.) Неунн. через 30 діб після опромінення рентгенівськими променями у дозі 21 Гр можна зробити висновок про значні зміни вмісту полісахаридів, нуклеїнових кислот і протеїнів, а також конформації макромолекул. Після опромінення у листках у рази знижувався вміст білків та нуклеїнових кислот, відбувалося заміщення пектину та лігніну целюлозою й геміцелюлозою, накопичувався крохмаль. Змінювалася композиція жирних кислот кутину. Також зафіксоване невелике збільшення відношення кількості бета-шарів до кількості альфа-спіральних доменів білків. Виявлені зміни можуть бути зумовлені індукцією біохімічної відповіді рослинних клітин на іонізуюче опромінення, що призводить до деградації нуклеїнових кислот, модифікації клітинної стінки, накопичення крохмалю, протеолізу та конформаційних перетворень білків.

Ключові слова: рентгенівське випромінювання, інфрачервона спектроскопія Фур'є (FTIR), індуковані опроміненням біохімічні зміни, гіперчутлива відповідь, клітинна стінка

Вивчення середньострокових ефектів впливу радіації на рослини передбачає комплексний аналіз якісних та кількісних структурно-метаболических змін, що виникають через тривалий проміжок часу після опромінення. Іонізуючу радіацію можна розглядати як тестовий чинник,

який можна використовувати для моделювання стресового впливу на рослину через подібність біохімічних та біологічних наслідків дії випромінювання та стресових умов середовища. Механізм індукції ефектів такого роду може бути пов'язаний з порушенням біохімічного гомеостазу структур клітин листка [18; 21] – мембран, білкових комплексів, клітинної стінки та нуклеїнових кислот. Це проявляється, зокрема, у зменшенні вмісту хлорофілів у тканинах листків, зниженні ефективності фотосинтезу [2; 3], у частковому відмиранні асимілюючих органів рослини через деякий час після опромінення.

У попередніх експериментах ми спостерігали зменшення у 1,5 рази кількості живих листків у прикореневій розетці опромінених у дозі 21 Гр рослин арабідопсису через 30 діб після опромінення порівняно з неопроміненим контролем. Поглинута доза 21 Гр належить до інтервалу доз, з яких починається інгібуючий вплив радіації на рослини *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., що знаходяться наприкінці вегетативної фази розвитку [9]. Тому цю дозу було використано в якості стрес-фактора, після дії якого можна зафіксувати біохімічні зміни, що при більших дозах проявляються в пригніченні життєвих процесів та зниженні життєздатності всієї рослини. З метою аналізу змін біохімічного складу листків використали метод інфрачервоної спектроскопії Фур'є (FTIR). Перевагами цього методу є швидкість, простота, надійність і відтворюваність результатів, можливість одночасного вимірювання вмісту найбільш життєво важливих біохімічних компонентів клітин без порушення цілісності об'єкту, тобто із збереженням властивого живій системі зв'язку між просторовими компартментами та макромолекулами біологічно важливих сполук [11; 12].

Матеріал і методи досліджень

Культивація рослин. У досліджах використовували рослини *A. thaliana* екотипу *Columbia 0*. Рослини вирощували в культивацийній кімнаті на ґрунтовій суміші «Полісся» в умовах довгого дня (18/6 год.) за температури +22–25 °С. Інтенсивність освітлення люмінісцентними лампами білого світла складала 5,9 кЛк (80 мкмоль фотонів м⁻² с⁻¹).

Опромінення. 35-денні рослини опромінювали на апараті РУМ-17 рентгенівськими променями з енергією квантів 180 кеВ (Національний інститут раку, Київ). Доза опромінення складала 21 Гр при потужності дози 89 сГр/хв.

Інфрачервона спектроскопія Фур'є. Спектри поглинання в області середньої інфрачервоної області (400–4000 см⁻¹) були отримані з використанням спектрометра Nicolet FTIR IS50 (Thermo Fisher Scientific, USA). Всі спектри вимірювали з роздільною здатністю 4 см⁻¹ [10]. Для аналізу відбирали по 2–3 різних за розміром листки з прикореневої розетки на 30-у добу після опромінення (65-а доба вегетації). Зрізані цільні листки ліофільно висушували. На кожному з листків було обрано 2–3 поля для спектроскопії: в центрі, біля зовнішнього краю листової пластинки та в зоні черешка.

У контрольному і дослідному варіанті було по 25 рослин. Повторюваність дослідів трикратна. Аналіз ІЧ-спектрів проводили у програмному пакеті Thermo Scientific OMNIC (Thermo Fisher Scientific, USA) та Excel 2003 (Microsoft, USA). Спектри є усередненням 32 сканувань одного і того самого поля з фільтрацією по фоновому спектру. Первинні спектрограми вирівнювали по базовій лінії та згладжували за допомогою функції Савіцького–Голея з метою фільтрації спектрального шуму. Відносну концентрацію біохімічних сполук оцінювали за площею відповідних піків оптичної густини (центр піку ±6 см⁻¹) на спектрограмі спектру поглинання з урахуванням вирівнювання по базовій лінії [18].

Результати досліджень та їх обговорення

На основі співставлення спектрограм з результатами, отриманими іншими дослідниками, було виявлено та ідентифіковано 12 стійких піків (табл. 1), характерних для ІЧ-спектру поглинання листків *A. thaliana* в області 400–4000 см⁻¹ [11–13; 16; 20; 21].

Вимірювання площі ідентифікованих піків свідчить про значущі відмінності в концентрації основних сполук непігментної природи, що входять до складу тканин (табл. 2).

Ідентифіковані піки ІЧ-спектру поглинання листків *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

| Пік спектру поглинання (вимірювання), см ⁻¹ | Хімічна група або зв'язок, тип коливань | Пік спектру поглинання (літературні дані), см ⁻¹ | Сполуки, характерні для тканин ліофілізованих листків | Клас хімічних сполук |
|--|---|---|---|--|
| 872 | глікозидний зв'язок, С-О | 875 | геміцелюлоза | полісахариди |
| 1023 | С-О-С, асиметричні коливання | 1023 | крахмаль | полісахариди |
| 1106 | -СН, -С-С, -С-О-С | 1106 | целюлоза | полісахариди |
| 1150 | глікозидний зв'язок, С-О | 1148 | пектин | полісахариди |
| 1244 | фосфатний зв'язок, РО ₂ -, асиметричні коливання | 1244 | ДНК, РНК | нуклеїнові кислоти |
| 1418 | дисоційована карбоксильна група (СОО-) | 1419 | пектин | полісахариди |
| 1472 | С-Н, площинна деформація | 1465-1595 | лігнін | фенілпропановидний полімер, поліфеноли |
| 1628 | карбонільна група, пептидний зв'язок (С-N) | 1627-1628 | протеїн, амід I, бета-шари | білки |
| 1651 | карбонільна група, пептидний зв'язок (С-N) | 1652-1658 | протеїн, амід I, альфа-спіралі | білки |
| 1740 | карбонільна група (С=О) | 1740 | тригліцериди та жирні кислоти | ліпіди |
| 2849 | метиленова група, симетричні коливання С-Н зв'язку | 2850 | аліфатичні складні ефіри жирних кислот | ліпіди кутикули (кутин) |
| 2916 | метиленова група, асиметричні коливання С-Н зв'язку | 2916-2919 | аліфатичні складні ефіри жирних кислот | ліпіди кутикули (кутин) |

Так, листки опромінених рослин містять більше структурних і запасуючих речовин – геміцелюлози, целюлози і крохмалю. У той же час, вміст полісахаридів, хімічно не споріднених з целюлозою, лігніну, пектину та його похідних, тобто структурних макромолекул, характерних для живих клітин, здатних до розтягнення [19], у листках опромінених рослин зменшується. Також спостерігається зміна кольору і форми листків (темно-зелене або антоціанове забарвлення, неправильна форма, скрученість листової пластинки, порушення жилкування). Поряд із суттєвим зниженням вмісту білків та нуклеїнових кислот, це вказує на відмирання або зменшення здатності меристематичних клітин до поділу, можливо, внаслідок програмованої клітинної загибелі.

У тканинах опромінених рослин майже в 2 рази знижується вміст ліпідів, що узгоджується з існуючими даними щодо впливу іонізуючого випромінювання на цей клас сполук. Відмінності між варіантами за величиною відношення «нуклеїнові кислоти/білки» також є статистично незначущою (див. табл. 3), а вміст нуклеїнових кислот у листках позитивно корелює з сумарною концентрацією характерних для білків груп. Крім того, вміст нуклеїнових кислот і білків зменшився у стільки ж разів, у скільки змінилися співвідношення «нуклеїнові кислоти/полісахариди клітинної стінки» та «білки/полісахариди клітинної стінки» відповідно (див. табл. 2 та 3). Це свідчить на користь припущення про паралельне зниження вмісту ДНК, РНК і білків у більшості клітин листка, тобто в результаті активації ендегенних механізмів біохімічної відповіді, а не внаслідок прямих променевих пошкоджень чи дії продуктів радіолізу води, оскільки при дозі гострого опромінення 21 Гр лише дуже незначна

частка молекул біополімерів зазнає іонізації, руйнування активними радикалами або перекисного окислення.

Площа піків, пов'язаних з жирними кислотами кутину епідермісу листка, не зменшується. Тим не менше їх композиція зазнає певних конформаційних змін, на що вказує зростання відношення «симетричні збуджені коливання/несиметричні збуджені коливання С-Н зв'язку» (табл. 3).

Таблиця 2

Зміни питомого вмісту ідентифікованих сполук, визначених на основі маркерних хімічних груп, у відносних одиницях площі піку на спектрограмі оптичної густини, $M \pm SE$

| Сполуки, характерні для тканин ліофілізованих листків | Хімічна група або зв'язок, тип коливань | Col-0, контроль | Col-0, 21 Гр | Статистично достовірні відмінності, $p < 0,01$ | Відношення «опромінені рослини/ контроль» |
|---|---|-----------------|--------------|--|---|
| <i>геміцелюлози</i> | глікозидний зв'язок, С-О | 0,65±0,04 | 1,22±0,15 | < | ↑ 1,88 |
| <i>крахмаль</i> | С-О-С, асиметричні коливання | 1,03±0,04 | 1,40±0,06 | < | ↑ 1,36 |
| <i>целюлоза</i> | -СН, -С-С, -С-О-С | 0,71±0,04 | 1,76±0,06 | < | ↑ 2,48 |
| <i>пектин</i> | глікозидний зв'язок, С-О; дисоційована карбоксильна група (СОО-) | 2,01±0,22 | 0,82±0,10 | > | ↓ 2,45 |
| <i>нуклеїнові кислоти</i> | фосфатний зв'язок, РО ₂ -, асиметричні коливання | 0,82±0,10 | 0,16±0,01 | > | ↓ 5,13 |
| <i>лігнін</i> | С-Н, площинна деформація | 1,58±0,23 | 0,14±0,03 | >0 | ↓ 11,29 |
| <i>протеїн, амід I, бета-шари</i> | карбонільна група, пептидний зв'язок (С-N) | 3,22±0,24 | 0,78±0,12 | > | ↓ 4,13 |
| <i>протеїн, амід I, альфа-спіралі</i> | карбонільна група, пептидний зв'язок (С-N) | 3,04±0,26 | 0,78±0,12 | > | ↓ 3,90 |
| <i>ліпіди</i> | карбонільна група | 2,11±0,30 | 1,07±0,17 | > | ↓ 1,97 |
| <i>жирні кислоти кутину</i> | метиленова група, симетричні коливання С-Н зв'язку; асиметричні коливання С-Н зв'язку | 3,41±0,12 | 3,84±0,86 | відсутні | відсутні |

Можна припустити, що частина меристематичних клітин листків опромінених рослин втрачає рРНК, які становлять більшу частину пулу нуклеїнових кислот, і здатність до синтезу білків, а також здатність до реплікації ДНК та поділу. У багатьох класичних радіобіологічних роботах була показана вакуалізація цитоплазми меристематичних клітин та потовщення клітинних стінок під дією іонізуючого опромінення [1]. Клітинна стінка таких клітин, імовірно, накопичує целюлозу, яка заміщує пектин. Зокрема, в наших дослідженнях відношення «целюлоза/пектин» у тканинах листків опромінених рослин зростає з 0,38 до 2,44. Зниження вмісту лігніну в 11,3 рази (табл. 2) у порівнянні з контролем вказує на тотальне руйнування лігнінових структур, що неминуче призводить до порушення еластичності тканин листа, здатності клітин до росту і розтягування, втрати тургору та деформації просторової форми і жилкування листової пластинки (ці аномалії листка опромінених рослин спостерігали візуально). Важливим є те, що загальна кількість основних полісахаридів клітинної стінки – целюлози, геміцелюлози, пектину під впливом радіації значуще не змінюється, отже у віддалений період після гострого опромінення відбувається не стільки руйнування, скільки зміна складу і структури клітинних стінок: зменшення вмісту пектину та лігніну й одночасне збільшення вмісту целюлози та геміцелюлоз. Відповідним чином перебудовується і вуглеводний обмін – кількість полісахаридів у листках опромінених рослин дещо зростає за рахунок полімерів глюкози: целюлози, геміцелюлози, крохмалю.

Деякі розрахункові біохімічні параметри, визначені на основі маркерних хімічних груп, у відносних одиницях площі піку на спектрограмі оптичної густини, $M \pm SE$

| Біохімічний параметр | Col-0, контроль | Col-0, 21 Гр | Статистично достовірні відмінності, $p < 0,01$ | Відношення «опромінені рослини/ контроль» |
|---|-----------------|--------------|--|---|
| <i>целюлоза, геміцелюлози</i> | 1,36±0,04 | 2,98±0,19 | < | ↑ 2,19 |
| <i>крохмаль</i> | 1,03±0,04 | 1,40±0,06 | < | ↑ 1,36 |
| <i>пектин</i> | 2,01±0,22 | 0,82±0,12 | > | ↓ 2,45 |
| <i>полісахариди клітинної стінки (целюлоза, геміцелюлози, пектин)</i> | 3,03±0,40 | 3,80±0,30 | відсутні | |
| <i>полісахариди-полімери глюкози (целюлоза, геміцелюлози, крохмаль)</i> | 2,39±0,05 | 4,39±0,20 | < | ↑ 1,84 |
| <i>полісахариди в цілому</i> | 4,06±0,38 | 5,21±0,31 | < | ↑ 1,28 |
| <i>відношення целюлоза/пектини</i> | 0,38±0,03 | 2,44±0,26 | < | ↑ 6,42 |
| <i>ліпіди</i> | 2,11±0,3 | 1,07±0,17 | > | ↓ 1,97 |
| <i>протеїни</i> | 6,26±0,50 | 1,64±0,21 | > | ↓ 3,82 |
| <i>відношення бета-шари/альфа-спіралі</i> | 1,07±0,01 | 1,20±0,05 | < | ↑ 1,12 |
| <i>відношення симетричні коливання/несиметричні коливання, C-H зв'язок, кутин</i> | 0,80±0,01 | 1,19±0,05 | < | ↑ 1,49 |
| <i>відношення нуклеїнові кислоти/протеїни</i> | 0,13±0,01 | 0,12±0,03 | відсутні | відсутні |
| <i>відношення нуклеїнові кислоти/полісахариди клітинної стінки</i> | 0,24±0,02 | 0,04±0,00 | > | ↓ 6,00 |
| <i>відношення протеїни/полісахариди клітинної стінки</i> | 1,86±0,07 | 0,49±0,08 | > | ↓ 3,80 |

Пострадіаційне порушення метаболізму нуклеїнових кислот позначається на зниженні відношення «нуклеїнові кислоти/полісахариди клітинної стінки» через 30 діб після опромінення у 6 разів в порівнянні з неопроміненним контролем (табл. 3). Після гострого опромінення відбуваються також і зміни на рівні білкового обміну. Окрім зменшення у 3,8 рази вмісту білків у листках розетки *A. thaliana*, зафіксоване невелике збільшення відношення кількості бета-шарів до кількості альфа-спіральних доменів білків (табл. 3). Обидва типи доменів, очевидно, входять до складу тих самих протеїнів, оскільки площі відповідних піків спектру поглинання сильно корелюють між собою ($r = 0,90-0,95$). Проте у листках опроміненого варіанту коефіцієнт кореляції значуще зменшується і повністю зникає характерна для контролю негативна кореляція ($r = -0,95-0,97$) між вмістом нуклеїнових кислот та відношенням «бета-шари/альфа-спіралі». Ми припускаємо радіаційну індукцію конформаційних модифікацій вторинної та третинної структури білків, пов'язану як з протеолізом, так і з переходом певних доменів до просторової структури, характерної для бета-листів. Останні дослідження вказують на можливість викликаної радіацією зміни фолдингу деяких протеїнів рослин, подібної до утворення бета-амілоїдів у тварин та дріжджів [7; 8]

Феноменологія виявлених ефектів значною мірою співпадає з гіперчутливою відповіддю, яка виникає у рослин внаслідок інвазії патогенів [14]. Проте особливість реакції рослин на радіацію полягає, по-перше, в тому, що вона не локальна, як у випадку гіперчутливості, а відразу зачіпає тканини цілих органів – розеткових листків, по-друге, описані вище біохімічні зміни розвиваються поступово, протягом тривалого часу після опромінення. Так само як стійкість до патогенів забезпечується гіперчутливістю клітин у зоні зараження, відносна висока радіостійкість рослин при опроміненні в сублетальній дозі може бути пов'язана з аналогічною реакцією, що проявляється у модифікації метаболізму, гістологічних змінах та відмиранні

клітин, тканин і органів. Показово, що транскрипційні фактори MYB, задіяні у гіперчутливій відповіді, відграють важливу роль у стресовій регуляції метаболізму полісахаридів, целюлози, лігніну, пектину, ліпідів [4; 14; 15], тобто тих ланок обміну речовин, у яких спостерігали найбільші відмінності від контролю після опромінення. Білки MYB приймають участь у контролі фенілпропаноїдного шляху та цвітіння [5], процесах, які зазнають суттєвих змін під впливом іонізуючого опромінення. Показано, що накопичення деяких фенілпропаноїдів і флавоноїдів пов'язане із порушенням синтезу лігніну [17]. Крім того, трансгенні лінії арабідопису, які характеризуються підвищеним рівнем експресії стресового транскрипційного фактору R2R3-MYB, мають фенотип [6], дуже схожий на той, що ми спостерігали у опромінених рослин і рослин, отриманих з опроміненого насіння. Також при опроміненні рослин *A. thaliana* в дозі 21 Гр в клітинах розеткових листків експресія маркерних генів репарації дволанцюгових розривів ДНК *AtRAD51* і *AtKu70* сягає найвищого рівня в діапазоні нестимулюючих сублетальних доз [9]. Можна припустити, що реакція, подібна до реакції гіперчутливості, спрямована на елімінацію клітин з необоротно порушеною структурою та функцією ліпідних мембран, а також клітин, не здатних відновити цілісність геному, і завдяки цьому – на збереження життєздатності організму та генетичної повноцінності гамет і насіння.

Висновки

На основі аналізу FTIR-спектрограм ліофілізованих розеткових листків модельної рослини *A. thaliana* через 30 діб після опромінення рентгенівськими променями в дозі 21 Гр, яка знаходиться на межі інтервалів стимуляції та пригнічення життєдіяльності опромінених рослин, можна зробити висновок про значні зміни кількісного вмісту полісахаридів, нуклеїнових кислот і протеїнів, а також конформації макромолекул. Виявлені віддалені біохімічні зміни можуть бути зумовлені індукцією біохімічної відповіді рослинних клітин на стрес, викликаний іонізуючим опроміненням, що призводить до деградації нуклеїнових кислот, модифікації клітинної стінки, накопичення крохмалю, протеолізу та конформаційних перетворень білків.

1. *Васильев И.* Действие ионизирующих излучений на растения. Радиофизиологические исследования / Васильев И. — М.: Издательство Академии наук СССР. — 1962. — С. 96—101.
2. *Лешина Л.* Влияние редкоизирующего излучения на биохимический статус регенерантов *Digitalis purpurea* L. в культуре in vitro. / [Лешина Л., Булко О., Литвинов С. та ін.] // Фактори експериментальної еволюції організмів. Збірник наукових праць.- 2016. — Т. 19. — С. 151—156. http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo_2016_19_34
3. *Шевченко В.* Оценка по индукции флуоресценции хлорофилла функционального состояния растений сои и льна, выросших в течение нескольких поколений под действием хронического облучения в зоне Чернобыльской АЭС. / [Шевченко В., Данченко М., Бережна В. та ін.] // Тези доповідей VI з'їзду Радиобіологічного Товариства України. — Київ. — 2015. — С. 134. http://icbge.org.ua/re/images/c/c6/VI_Congress_URS_2015_Abstract_BOOK_Plus.pdf
4. *Ambawat S., Sharma P., Yadav N.R., Yadav R.C.* MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview. // *Physiology and Molecular Biology of Plants*. — 2013. —19(3). — pp. 307—321. doi: 10.1007/s12298-013-0179-1
5. *Colquhoun T.A., Schwieterman M.L., Wedde A.E. et al.* EOBII Controls Flower Opening by Functioning as a General Transcriptomic Switch. // *Plant Physiology*. — 2011. — 156. — pp. 974—984. doi: 10.1104/pp.111.176248
6. *Cominelli E., Sala T., Calvi D., Gusmaroli G., Tonelli C.* Over-expression of the Arabidopsis *AtMYB41* gene alters cell expansion and leaf surface permeability. // *The Plant Journal*. —2008. — 53. — pp. 53-64. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03310.x
7. *Danchenko M., Klubicova K., Krivohizha M., Berezhna V., Sakada V., Hajduch M., Rashydov N.* Systems biology is an efficient tool for investigation of low-dose chronic irradiation influence on plants in the Chernobyl zone. // *Cytology and Genetics*. —2016. — 50(6). — pp. 400-414. doi: 10.3103/S0095452716060050
8. *Gabrisova D., Klubicova K., Danchenko M., Gomory D., Berezhna V., Skultety L., Miornyk J., Rashydov N., Hajduch M.* Do Cupins Have a Function Beyond Being Seed Storage Proteins? // *Front. Plant Sci*. — 2016. — 6. pp. 1-9. doi: 10.3389/fpls.2015.01215

9. Litvinov S., Rasydyov N. The transcriptional response of *Arabidopsis thaliana* L. AtKu70, AtRAD51 and AtRad1 genes to X-rays. // Journal of Agricultural Science and Technology A. — 2017. — 7 (1). — P. 52-60. doi: 10.17265/2161-6256/2017.01.008
10. Makhnii T., Ilchenko O., Reynt A., Pilgun Y., Kutsyk A., Krasnenkov D., Ivasyuk M., Kukharsky V. Age-related changes in FTIR and Raman spectra of human blood. // Ukr. J. Phys. — 2016. — 61 (10). — pp. 853-862. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ukjourph_2016_61_10_3
11. Mazurek S., Mucciolo A., Humbel B., Nawrath C. Transmission Fourier transform infrared microspectroscopy allows simultaneous assessment of cutin and cell-wall polysaccharides of *Arabidopsis* petals. // The Plant Journal. — 2013. — 74. — pp. 880-891. doi: 10.1111/tpj.12164
12. Movasaghi Z., Rehman S., Rehman I. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. // Applied Spectroscopy Reviews. — 2008. — 43. — pp. 134-179. doi: 10.1080/05704920701551530
13. Perromat A., Melin A.-M., Lorin C., Deleris G. Fourier Transform IR Spectroscopic Appraisal of Radiation Damage in *Micrococcus luteus*. // Biopolymers. — 2003. — 72. — pp. 207-216. doi: 10.1002/bip.10381
14. Raffaele S., Vailleau F., A. Léger et al. A MYB Transcription Factor Regulates Very-Long-Chain Fatty Acid Biosynthesis for Activation of the Hypersensitive Cell Death Response in *Arabidopsis*. // The Plant Cell. — 2008. — 20. — pp. 752—767. doi: 10.1105/tpc.107.054858
15. Roy S. Function of MYB domain transcription factors in abiotic stress and epigenetic control of stress response in plant genome. // Plant signaling & Behaviour. — 2016. — 11(1). pp. 1-7. doi: 10.1080/15592324.2015.1117723
16. Schulz H., Baranska M. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. // Vibrational Spectroscopy. — 2007. — 43. — pp. 13-25. doi: 10.1016/j.vibspec.2006.06.001
17. Vanholme R., Storme V., Vanholme B. et al. A Systems Biology View of Responses to Lignin Biosynthesis Perturbations in *Arabidopsis*. // The Plant Cell. — 2012. — 24. — pp. 3506—3529. doi: 10.1105/tpc.112.102574
18. Wei Z., Dong L., Tian Z.H. Fourier transform infrared spectrometry study on early stage of cadmium stress in clover leaves. // Pak. J. Bot. — 2009. — 41(4). — pp. 1743-1750. [http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/41\(4\)/PJB41\(4\)1743.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/41(4)/PJB41(4)1743.pdf)
19. Wilson R., Smith A., Kačuráková M., Saunders P., Wellner N., Waldorn K. The Mechanical Properties and Molecular Dynamics of Plant Cell Wall Polysaccharides Studied by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy. // Plant Physiology. — 2000. — 124. — pp. 397-405. doi: 10.1104/pp.124.1.397
20. Xu F., Yu J., Tesso T., Dowell F., Wang D. Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini-review. // Applied Energy. — 2013. — 104. — pp. 801-809. doi: 10.1016/j.apenergy.2012.12.019
21. Zhao X., Sheng F., Li X., Chen G. Fourier transform—infrared studies on the effects of salt and drought stress on the chemical composition and protein conformation changes in *Arabidopsis* leaves. // Sciences in Cold and Arid Regions. — 2009. — 1(4). — pp. 341-347. doi: 10.1104/pp.004325

С. В. Литвинов, М. В. Кривохижя, В. М. Кухарский, Н. М. Рашидов

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины

Институт геронтологии имени Д.Ф.Чеботарёва НАМН Украины

ИЗМЕНЕНИЯ НЕПИГМЕНТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ ОБЛУЧЁННЫХ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.

Действие радиации на растения часто вызывает структурно-метаболические изменения, проявляющиеся через длительный промежуток времени после облучения. С целью изучения изменений в составе непигментных соединений ассимилирующего органа растений – листа использовали метод инфракрасной спектроскопии Фурье (FTIR). На основе анализа FTIR-спектрограмм лиофилизированных розеточных листьев модельного растения *Arabidopsis thaliana* через 30 суток после облучения рентгеновскими лучами в дозе 21 Гр можно сделать вывод о значительных изменениях содержания полисахаридов, нуклеиновых кислот и протеинов, а также конформации макромолекул. После облучения в листьях в разы снижалось содержание белков и нуклеиновых кислот, происходило замещение пектина и лигнина целлюлозой и гемицеллюлозой, накапливался крахмал. Изменялась композиция жирных кислот кутина. Также зафиксировано небольшое увеличение отношения количества бета-слоев к количеству альфа-спиральных доменов белков. Выявленные изменения могут быть

обусловлены индукцией биохимического ответа растительных клеток на стресс, вызванный ионизирующим облучением, что ведёт к деградации нуклеиновых кислот, модификации клеточной стенки, накоплению крахмала, протеолизу и конформационным превращениям белков.

Ключевые слова: рентгеновское излучение, инфракрасная спектроскопия Фурье (FTIR), индуцированные облучением биохимические изменения, гиперчувствительный ответ, клеточная стенка

S. V. Litvinov, M. V. Krivohizhaya, V. M. Kukharskyu, N. M. Rashydov

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering NAS of Ukraine

D. F. Chebotarev State Institute of Gerontology NAMS of Ukraine

CHANGES IN THE NON-PIGMENTED COMPOUNDS IN LEAVES OF IRRADIATED *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH. PLANTS

The action of radiation on plants often causes structural and metabolic changes that occur over a long period of time after irradiation. In order to analyze changes in composition of non-pigment compounds of the plant assimilative organ, leaf, the Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) was used. On the basis of the analysis of the FTIR spectrograms of the lyophilized rosette leaves of *Arabidopsis thaliana* 30 days after X-irradiation at dose 21 Gy it can be concluded that there are significant changes in the content of polysaccharides, nucleic acids and proteins. In particular, in the leaves of irradiated plants the content of proteins and nucleic acids was greatly reduced, pectin and lignin were replaced by cellulose and hemicellulose, starch was accumulated. The composition of fatty acids in the cutin in the leaves of irradiated plants has been undergo structural changes. Also, a slight increase in the ratio of the number of beta-sheets to the number of alpha-helix domains of proteins has been observed. The changes can be related to the induction of the biochemical response of plant cells to ionizing radiation, leading to the degradation of nucleic acids, modification of the cell wall, accumulation of starch, proteolysis and conformational changes in proteins.

Key words: X-radiation, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), radiation induced biochemical changes, hypersensitive response, cell wall

Рекомендує до друку

Надійшла 07.03.2018

В. В. Грубінко

УДК 633.8:661.718.1(477.84)

Ю. В. ЛЮТА, В. В. ГРУБІНКО

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

НАКОПИЧЕННЯ ФОСФОРУ В ОРГАНІЗМІ *NASTURTIIUM OFFICINALE R. BR.*

Поблизу р. Серет в межах м. Тернопіль (49°29'15" пн. ш., 25°34'51" сх. д.) виявлено вегетування настурції звичайної (*Nasturtium officinale R. Br.*), яка має високу накопичувальну здатність щодо сполук фосфору. Найефективнішими з точки зору накопичення фосфору є коренево-стеблова частина рослини, що сприяє вилученню з екосистеми фосфорних сполук переважно з ґрунтового шару та з товщі води. Для практичного використання у покращенні екологічного стану водойм та зменшення їх евтрофікації шляхом вилучення сполук фосфору, зважаючи на швидкість наростання біомаси рослини у гідроценозі, швидкість та тривалість вегетації, *N. officinale* є перспективним фосфоре mediaційним видом.

Ключові слова: *Nasturtium officinale R. Br.*, фосфор, накопичення, гідро екосистема