

А. М. Берестяна, академік НАН України Д. М. Гродзинський

## Динаміка хлорофілу в процесі старіння сім'ядольних листків *Linum usitatissimum*, опроміненого рентгенівською радіацією

*Досліджено динаміку хлорофілу в процесі старіння сім'ядольних листків *Linum usitatissimum*, підданого дії різних доз гострого рентгенівського опромінення. Встановлено залежність деградації хлорофілу *a* та хлорофілу *b* від дози опромінення і стадії онтогенезу сім'ядольних листків. Розглянуто особливості розпаду хлорофілу як одного з параметрів радіаційно-індукованого старіння.*

Вивчення онтогенетичних реакцій рослин на несприятливий вплив середовища становить одну з найбільш цікавих проблем радіобіології. На сьогодні недостатньо дослідженим залишається вплив іонізуючого опромінення на пігментний склад монокарпиків у процесі старіння. Відомо, що одним з віддалених ефектів опромінення є радіаційно-індуковане старіння. Радіаційний вплив викликає порушення фізіологічних та біохімічних властивостей листка, що виражається в зниженні вмісту хлорофілу та збільшенні рівня захисних компонентів — антоціанів. Зміни вмісту пігментів свідчать про стресовий характер іонізуючого опромінення та про темпи гідролітичних процесів, асоційованих зі старінням.

Дія різних несприятливих зовнішніх факторів, таких як забруднюючі речовини, іонізуюче та короткохвильове опромінення, призводить до порушення життєдіяльності, росту та розвитку рослин, зміни нормальних фізіологічних параметрів і передчасного старіння [1]. Найбільш чутливою системою до мінливих умов середовища є пігментний комплекс. Вміст пігментів рослинної клітини знаходиться залежно від сигналів зовнішнього середовища та від ступеня адаптації до них. Хлорофіли виступають основними фоторецепторами фотосинтезуючої клітини. Їх концентрація корелює з інтенсивністю життєдіяльності організму. Виробляючи захисні механізми, організм змінює вміст пігментів фотосинтезу залежно від ступеня дії різних пошкоджуючих факторів [2, 3]. Зміни вмісту та співвідношення фотосинтетичних пігментів у листках служать тестом, що дає можливість оцінити вплив іонізуючого опромінення на стан ураження рослини, темпи її вікової деградації. Вивчення динаміки хлорофілу листків важливо в питанні встановлення онтогенетичних реакцій рослин на дію антропогенних навантажень [4–6].

**Матеріали та методи.** Досліджували динаміку хлорофілу в процесі старіння сім'ядольних листків *Linum usitatissimum*, підданого дії різних доз гострого рентгенівського опромінення. 15-добові вегетативні рослини *L. usitatissimum* опромінювали в дозах 1, 3, 5, 15 Гр на рентгенівській установці РУМ-17. Рослини вирощували, відбирали сім'ядольні листки на різних стадіях їх онтогенезу: С1, С2, С3, С4 — умовно позначених як стадії, на яких відбувається морфологічно та біохімічно значущі зміни структури листка, зокрема пожовтіння 0, 5, 25–50, 50–70% відповідно. Біоматеріал використовували для вимірювання концентрації хлорофілу *a*, *b* та суми хлорофілів.

Для визначення вмісту хлорофілу брали наважку свіжого рослинного матеріалу 100–150 мг у триразовій повторності, розтирали у фарфоровій ступці з невеликою кількістю

MgCO<sub>3</sub> та 80% ацетону (2–3 мл). Отриманий гомогенат фільтрували в скляну пробірку через фільтрувальний папір. Екстракцію пігментів з гомогенату на фільтрі проводили невеликими порціями чистого розчинника доти, поки фільтрат, що стікає, не ставав безбарвним. Об'єм витяжки доводили чистим розчинником до 25 мл. Для кількісного розрахунку концентрації хлорофілів *a* та *b* у витяжці пігментів визначали оптичну густину *D* екстракту на спектрофотометрі, наливали в кювету, знімали показники при значеннях довжини хвилі, що відповідають максимумам поглинання досліджуваних пігментів у даному розчиннику:  $\lambda = 663$  — хлорофіл *a*,  $\lambda = 646$  — хлорофіл *b*. Друга кювета заповнювалася контролем — чистим розчинником (80% ацетон).

Концентрацію пігментів розраховували за формулою для визначення хлорофілів у 80% ацетоні (за Lichtenthaler) [7]:

$$C_a = 12,21 \cdot D_{663} - 2,81 \cdot D_{646},$$

$$C_b = 20,13 \cdot D_{646} - 5,03 \cdot D_{663},$$

де  $D_{663}$  та  $D_{646}$  — оптична густина витяжки при 663 та 646 нм відповідно; *C* — концентрація пігменту у витяжці, мг/л.

Кількість пігментів виражають у мг на одиницю сирої речовини. Встановивши концентрацію пігменту у витяжці, визначають його вміст у рослинній тканині в мг/г сирої маси з урахуванням об'єму витяжки та маси наважки:

$$F = \frac{V \cdot C}{P} \cdot 100,$$

де *F* — вміст пігменту в рослинному матеріалі, мг/г сирої маси; *V* — об'єм витяжки пігменту, мл (25 мл); *C* — концентрація пігменту, мг/л, після розрахунку за формулами; *P* — наважка рослинного матеріалу, г.

**Результати та обговорення.** Проведено дослідження вмісту хлорофілу *a*, хлорофілу *b* та їх суми (*a* + *b*) в екстрактах листків на різних стадіях їх онтогенезу при опроміненні дозами 1, 3, 5 та 15 Гр іонізуючої радіації. Вміст хлорофілів *a* та *b* у сім'ядольних листках *L. usitatissimum* наведено в табл. 1 та на рис. 1. Як видно, опромінення справляє різний вплив на вміст хлорофілу в листках різного віку.

Таблиця 1. Вміст хлорофілів *a* і *b* (мг/г сирої маси) в онтогенезі листя *Linum usitatissimum*, опроміненого різними дозами рентгенівської радіації

| Стадія онтогенезу<br>листка | Пігмент                     | Контроль    | 1 Гр        | 3 Гр        | 5 Гр        | 15 Гр       |
|-----------------------------|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Початковий (C1)             | Хл. <i>a</i>                | 1,11 ± 0,10 | 0,35 ± 0,02 | 0,87 ± 0,03 | 1,57 ± 0,07 | 0,55 ± 0,02 |
|                             | Хл. <i>b</i>                | 0,42 ± 0,04 | 0,22 ± 0,01 | 0,39 ± 0,02 | 0,48 ± 0,03 | 0,14 ± 0,02 |
|                             | Хл. ( <i>a</i> + <i>b</i> ) | 1,53 ± 0,06 | 0,57 ± 0,02 | 1,26 ± 0,05 | 2,05 ± 0,04 | 0,69 ± 0,03 |
| Середній (C2)               | Хл. <i>a</i>                | 0,77 ± 0,03 | 0,89 ± 0,04 | 0,77 ± 0,04 | 1,23 ± 0,04 | 0,18 ± 0,03 |
|                             | Хл. <i>b</i>                | 0,33 ± 0,01 | 0,34 ± 0,02 | 0,25 ± 0,02 | 0,51 ± 0,02 | 0,10 ± 0,01 |
|                             | Хл. ( <i>a</i> + <i>b</i> ) | 1,1 ± 0,04  | 1,23 ± 0,03 | 1,02 ± 0,05 | 1,74 ± 0,04 | 0,28 ± 0,02 |
| В'янення (C3)               | Хл. <i>a</i>                | 0,68 ± 0,03 | 0,57 ± 0,01 | 0,60 ± 0,03 | 0,77 ± 0,02 | 0,42 ± 0,04 |
|                             | Хл. <i>b</i>                | 0,28 ± 0,01 | 0,35 ± 0,01 | 0,31 ± 0,02 | 0,41 ± 0,01 | 0,11 ± 0,02 |
|                             | Хл. ( <i>a</i> + <i>b</i> ) | 0,96 ± 0,02 | 0,92 ± 0,02 | 0,91 ± 0,03 | 1,18 ± 0,02 | 0,53 ± 0,03 |
| Кінцевий (C4)               | Хл. <i>a</i>                | 0,42 ± 0,01 | 0,48 ± 0,02 | 0,40 ± 0,03 | 0,58 ± 0,03 | 0,23 ± 0,02 |
|                             | Хл. <i>b</i>                | 0,16 ± 0,02 | 0,19 ± 0,01 | 0,21 ± 0,02 | 0,16 ± 0,01 | 0,10 ± 0,01 |
|                             | Хл. ( <i>a</i> + <i>b</i> ) | 0,58 ± 0,02 | 0,67 ± 0,01 | 0,61 ± 0,02 | 0,74 ± 0,03 | 0,33 ± 0,02 |

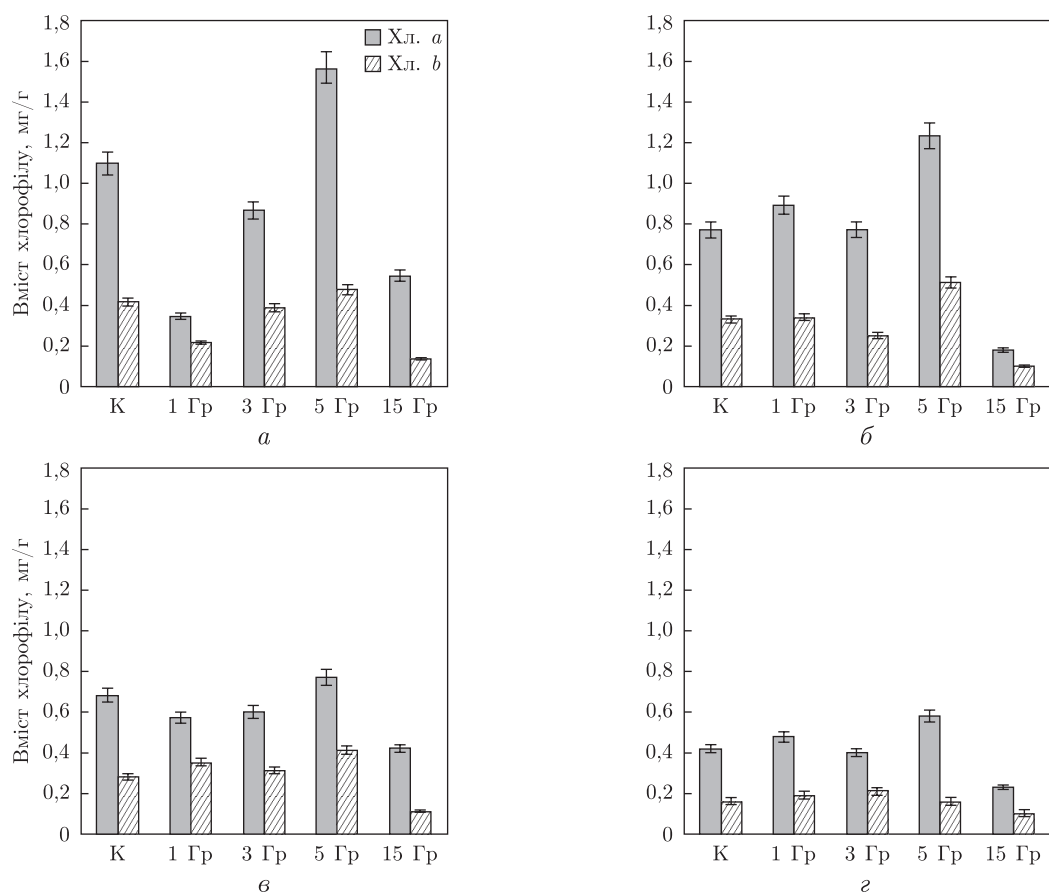


Рис. 1. Динаміка хлорофілу *a* та хлорофілу *b* (мг/г сирої маси) в онтогенезі листя *Linum usitatissimum*, опроміненого різними дозами рентгенівської радіації. Стадія онтогенезу листка: *a* — початкова (C1); *б* — середня (C2); *в* — початок в'янення (C3); *г* — кінцева (C4); К — контроль

Розглянемо особливості зміни вмісту хлорофілу залежно від дози рентгенівського опромінення на кожній визначеній стадії онтогенезу.

**Стадія молодого листка (C1).** Доза 1 Гр викликала різке зниження концентрації сумарного хлорофілу та хлорофілів *a* і *b* окремо (див. табл. 1, рис. 1, *a*). Для виявлення тенденцій зміни хлорофілів *a* і *b* дані табл. 1 піддали обробці, прийнявши вихідну величину його вмісту в контролі початкової стадії C1 за 100%, а наступні величини змін по дозах та стадіях — за *X*. Отримані дані відносного вмісту хлорофілів *a* та *b* (табл. 2 та рис. 2) свід-

Таблиця 2. Вміст хлорофілів *a* та *b* в онтогенезі листя *Linum usitatissimum*, опроміненого різними дозами рентгенівської радіації, відносно значень контролю початкової стадії (C1), %

| Варіант  | C1       |          | C2       |          | C3       |          | C4       |          |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|          | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>a</i> | <i>b</i> |
| Контроль | 100      | 100      | 69,3     | 78,5     | 61,2     | 66,7     | 38,1     | 38,0     |
| 1 Гр     | 31,5     | 52,3     | 80,1     | 80,9     | 51,3     | 83,3     | 43,2     | 45,2     |
| 3 Гр     | 78,3     | 92,8     | 69,3     | 59,5     | 54,5     | 73,8     | 36,0     | 50,0     |
| 5 Гр     | 141,4    | 114,2    | 111,8    | 121,4    | 69,3     | 97,6     | 52,2     | 38,0     |
| 15 Гр    | 49,5     | 33,3     | 16,3     | 23,8     | 37,8     | 26,1     | 20,7     | 23,8     |

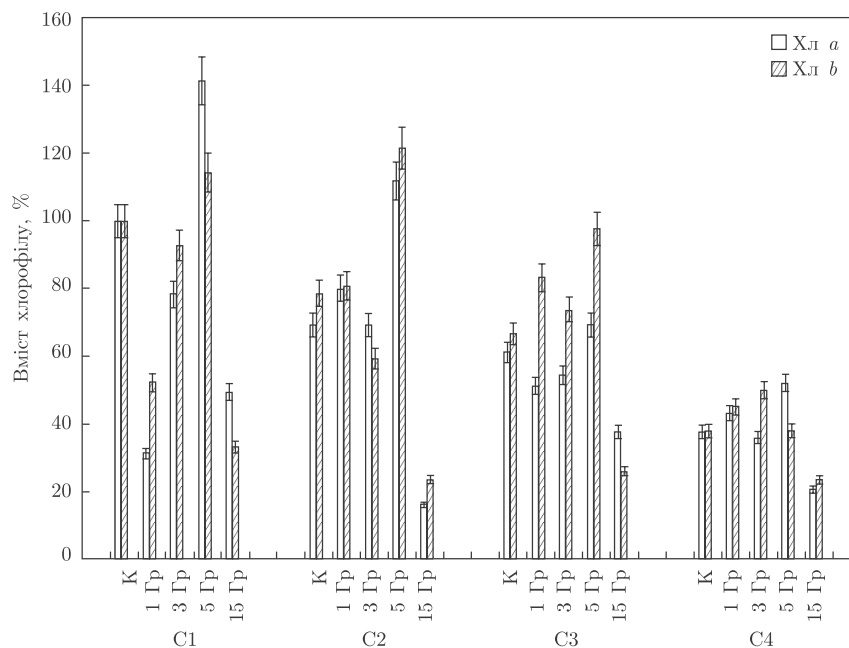


Рис. 2. Вміст хлорофілів *a* та *b* в опромінених зразках відносно контролю початкової стадії (C1)

чать про відмінності характеру деградації пігментів у міру старіння листків, опромінених різними дозами рентгенівської радіації.

Незалежно від дози опромінення, в усіх листках у міру старіння вміст хлорофілів *a* і *b* знижувався, хоча з різною швидкістю. Концентрація сумарного хлорофілу в досліджуваних зразках наведена в табл. 3 і на рис. 3. На стадії C1 у зразках, опромінених дозою 1 Гр, кількість сумарного хлорофілу становила 37,2% відносно контролю (див. рис. 3, *a*). Жодна з інших доз не спричиняла такого інтенсивного зниження вмісту пігментів. Кількість хлорофілів *a* і *b* у даному варіанті дорівнювала 31,5 та 52,3% відносно контролю (див. табл. 2, рис. 2) відповідно. Співвідношення хлорофілів *a/b* становило 1,59 (табл. 4).

Доза 3 Гр викликала помірне зниження кількості хлорофілу порівняно з попередньою дозою. Відносний вміст сумарного хлорофілу в даному зразку становив 82,3% відносно контролю, що більш ніж у два рази більше порівняно з дозою 1 Гр (див. рис. 3). Вміст хлорофілів *a* і *b* відносно контролю був 78,3 та 92,8% відповідно (див. табл. 2, рис. 2). Співвідношення *a/b* становило 2,23 (див. табл. 4).

При опроміненні в дозі 5 Гр спостерігалася цікава картина щодо підвищення вмісту хлорофілу. Вміст сумарного хлорофілу відносно контролю становив 133,9% (див. рис. 3, *a*).

Таблиця 3. Вміст сумарного хлорофілу в онтогенезі листя *Linum usitatissimum*, опроміненого різними дозами рентгенівської радіації, відносно контролю початкової стадії, %

| Варіант  | Стадія онтогенезу листка |       |      |      |
|----------|--------------------------|-------|------|------|
|          | C1                       | C2    | C3   | C4   |
| Контроль | 100                      | 71,8  | 62,7 | 37,9 |
| 1 Гр     | 37,2                     | 80,3  | 60,1 | 43,7 |
| 3 Гр     | 82,3                     | 66,5  | 59,4 | 39,8 |
| 5 Гр     | 133,9                    | 113,7 | 77,1 | 48,3 |
| 15 Гр    | 45,0                     | 18,3  | 34,5 | 21,5 |

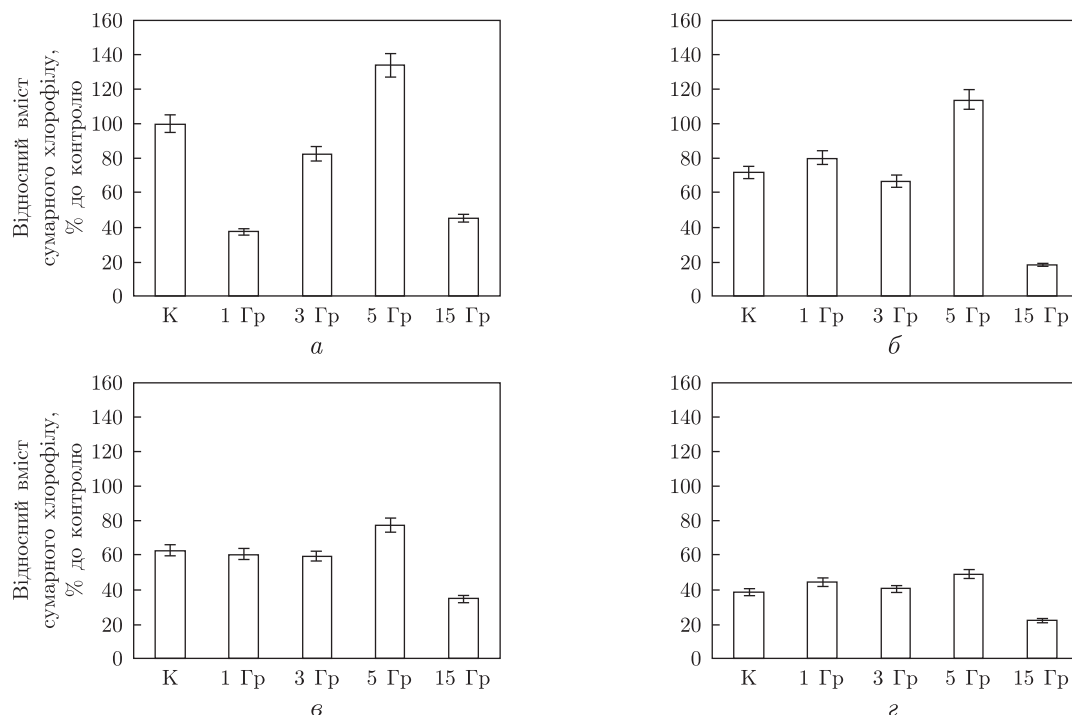


Рис. 3. Вміст сумарного хлорофілу в опроміненіх зразках відносно контролю початкової стадії (C1). Стадія онтогенезу листка: а — початкова (C1); б — середня (C2); в — початок в'янення (C3); г — кінцева (C4); К — контроль

Вміст хлорофілу а дорівнював 141,4%, хлорофілу б — 114,2% відносно контролю (див. табл. 2, рис. 2). Даний феномен спостерігався тільки на стадії C1 та, як буде показано нижче, не повторювався на наступних етапах онтогенезу. Дане явище слід розглядати як стимулюючу дію, особливо відносно хлорофілу а, концентрація якого зросла на 41,4% (див. табл. 2, рис. 2) порівняно з контролем. Співвідношення  $a/b$  становило 3,27, що вище, ніж при дозі 3 Гр, за рахунок збільшення вмісту хлорофілу а (див. табл. 4).

Підвищення сумарного вмісту хлорофілу можна пояснити тим фактом, що зі збільшенням дози опромінення активуються різні компенсаторні системи, метаболічні відновлювальні процеси та репарації радіаційних пошкоджень. У нашому випадку можна припускати включення адаптивних процесів при дозі 5 Гр.

При дозі 15 Гр відмічено різке зниження кількості сумарного хлорофілу даної стадії, однак менше, ніж при найменшій дозі — 1 Гр. Так, у зразках, опроміненіх дозою 15 Гр, відносна кількість сумарного хлорофілу дорівнювала 45% відносно контролю (див. табл. 3,

Таблиця 4. Відношення хлорофілу  $a/b$  в онтогенезі листя *Linum usitatissimum*, опроміненого різними дозами рентгенівської радіації

| Стадія онтогенезу<br>листа | Контроль | 1 Гр | 3 Гр | 5 Гр | 15 Гр |
|----------------------------|----------|------|------|------|-------|
| Початкова (C1)             | 2,64     | 1,59 | 2,23 | 3,27 | 3,92  |
| Середня (C2)               | 2,33     | 2,61 | 3,08 | 2,41 | 1,80  |
| В'янення (C3)              | 2,42     | 1,62 | 1,93 | 1,87 | 3,81  |
| Кінцева (C4)               | 2,62     | 2,52 | 1,90 | 3,62 | 2,30  |

рис. 3). Вміст хлорофілу *a* становив 49,5%, хлорофілу *b* — 33,3% відносно контролю (див. табл. 2, рис. 2). Особливо відрізняється найменший вміст хлорофілу *b* серед інших дослідних зразків даної стадії. Співвідношення *a/b* становило 3,92 за рахунок зниження хлорофілу *b* (див. табл. 4).

*Середня стадія онтогенезу сім'ядольного листка (C2)*. На цій стадії відбувалося деяке зниження показників контролю, що можна пояснити процесами вікової деградації хлорофілу в нормальних умовах (див. табл. 1, рис. 1). При опроміненні в дозі 1 Гр спостерігалось зростання вмісту хлорофілу порівняно з попередньою стадією. Так, вміст хлорофілу *a* дорівнював 80,1%, а хлорофілу *b* — 80,9% відносно контролю першої стадії (див. табл. 2, рис. 2). Це можна пояснити тим, що з часом після опромінення відбувається елімінування пошкоджень та відновлення нормального гомеостазу. Співвідношення *a/b* становило 2,61 (див. табл. 4).

Доза 3 Гр викликала зниження кількості хлорофілу. Вміст хлорофілу *a* дорівнював 69,3%, хлорофілу *b* — 59,5% відносно контролю (див. табл. 2, рис. 2). Отже, порівняно з попередньою стадією, рівень хлорофілу *a* зменшився на 9%, хлорофілу *b* — на 33,3%. Вміст сумарного хлорофілу знизився на 15,8% (див. табл. 3, рис. 3, в).

Доза 5 Гр, як і на попередній стадії, спричиняла деяке збільшення вмісту сумарного хлорофілу, який становив 113,7% відносно контролю початкової стадії (див. табл. 3, рис. 3, в). Відносний вміст хлорофілу *a* дорівнював 111,8%, хлорофілу *b* — 121,4% (див. табл. 2, рис. 2). Варто відзначити, що кількість хлорофілу *b* помітно зросла порівняно з попередньою стадією, а кількість хлорофілу *a* — знизилася. Співвідношення *a/b* становило 2,41 (див. табл. 4). Це може свідчити про включення захисних механізмів, в яких задіяний хлорофіл *b*. Коли дія абіотичного стресу переважає над відновними механізмами, відбувається розпад хлорофілу *b*, що служить діагностичною ознакою стану рослини [8].

Вплив дози 5 Гр виявлявся в стабільному підвищенні відносного вмісту хлорофілу *a* та хлорофілу *b* на стадіях C1 та C2 порівняно з контролем початкової стадії (див. рис. 2). На наступних стадіях, як буде описано нижче, спостерігалася деградація хлорофілу, що за темпами відповідала швидкості деградації в контролі. Вочевидь, стимулюючий ефект, отриманий від даної дози, в процесі старіння листка почав затухати та зійшов нанівець.

При дозі 15 Гр на даній стадії відмічено помітне зниження кількості хлорофілу порівняно з попередньою стадією. Так, вміст сумарного хлорофілу становив 18,3% (див. табл. 3, рис. 3, в), хлорофілу *a* — 16,3%, хлорофілу *b* — 23,8% відносно контролю першої стадії (див. табл. 2, рис. 2). Співвідношення *a/b* дорівнювало 1,80 (див. табл. 4). У даному випадку спостерігалася деградація хлорофілу, обумовлена опроміненням у високій дозі, що, як і на попередній стадії, викликало руйнування хлорофілу в два рази порівняно з контролем. Подальші темпи розпаду пігментів адекватні темпам вікової деградації в ході старіння.

*Стадія початку в'янення (C3)*. На цій стадії показники в контрольних зразках знижувалися відповідно до процесів вікової деградації клітинних компонент. Кількість сумарного хлорофілу становила 62,7% відносно контролю початкової стадії онтогенезу (див. табл. 3, рис. 3, в). Співвідношення *a/b* дорівнювало 2,42 (див. табл. 4).

Доза 1 Гр викликала значне зниження вмісту хлорофілу *a* порівняно з показником попередньої стадії для даної дози. Вміст пігменту становив 51,3%, що вище, ніж на стадії C1, коли опромінення даною дозою спричиняло різкий розпад хлорофілу *a*. Концентрація хлорофілу *b* на стадії C3 була навіть трохи вищою, ніж на попередній, та становила 83,3% відносно контролю стадії C1 (див. табл. 2, рис. 2). Це, імовірно, може означати, що пошкодження, отримане на початковій стадії (C1) від дози 1 Гр, в процесі старіння “випра-

вилосся” завдяки роботі репараційних систем. Співвідношення  $a/b$  дорівнювало 1,62 (див. табл. 4).

При опроміненні дозою 3 Гр вміст хлорофілу  $a$  зменшився порівняно з показником попередньої стадії і становив 54,5%, а вміст хлорофілу  $b$  дещо підвищився і становив 73,8%, що на 14,3% вище, ніж на стадії С2 (див. табл. 2, рис. 2). Збільшення вмісту хлорофілу  $b$  відбувається при адаптації рослин до опромінення. Співвідношення  $a/b$  дорівнювало 1,93 за рахунок розпаду хлорофілу  $a$  (див. табл. 4).

При застосуванні дози 5 Гр вміст хлорофілу  $a$  становив 69,3%, хлорофілу  $b$  — 97,6% відносно контролю початкової стадії (див. табл. 2, рис. 2). Співвідношення  $a/b$  становило 1,87 (див. табл. 4). Ці показники значно нижчі, ніж на двох попередніх стадіях. На стадії початку в’янення (С3) згладжується стимулюючий даною дозою ефект, що спостерігався раніше. Однак ці значення все ж таки вищі, ніж у зразках, опромінених більш низькими дозами. Це свідчить про зниження темпів деградації в зразках, опромінених дозою 5 Гр. Кількість хлорофілу  $b$  була вищою, ніж у контролі цієї стадії, і становила 97,6%, що, ймовірно, свідчить про включення захисних систем під дією опромінення (див. табл. 2, рис. 2). Це також узгоджується з деякими літературними даними [9, 10].

Доза 15 Гр викликала різке зниження вмісту хлорофілу  $b$ , який становив 26,1%, але був на 3,7% вищим, ніж на стадії С2. Вміст хлорофілу  $a$  також збільшився порівняно з попередньою стадією, що уповільнило темпи вікової деградації (див. табл. 2, рис. 2). Співвідношення  $a/b$  становило 3,81 (див. табл. 4).

*Кінцева стадія онтогенезу (С4).* На цій стадії показник контролю був нижчий, ніж на стадії початку в’янення і становив 37,9% сумарного хлорофілу відносно контролю стадії С1 (див. табл. 3, рис. 3, *г*). Причому кількість хлорофілу  $a$  та хлорофілу  $b$  була однаковою і становила 38,1 та 38,0% відповідно (див. табл. 2, рис. 2.). Співвідношення  $a/b$  дорівнювало 2,62 (див. табл. 4).

Доза 1 Гр викликала аналогічне рівномірне зменшення вмісту пігментів, який становив 43,2% (хл.  $a$ ) та 45,2% (хл.  $b$ ) (див. табл. 2, рис. 2). Вирівнювання вмісту хлорофілів  $a$  та  $b$  відбулося за рахунок падіння останнього порівняно зі стадією С3, що характерно для старіння. Саме розпад хлорофілу  $b$  супроводжує зміни при старінні листка. Співвідношення  $a/b$  дорівнювало 2,52 (див. табл. 4).

При опроміненні в дозі 3 Гр відмічено зменшення показників хлорофілу  $a$  та  $b$ , темпи якого були аналогічні попередній стадії — 36,0 та 50,0% відповідно (див. табл. 2, рис. 2). Співвідношення  $a/b$  дорівнювало 1,90 (див. табл. 4).

При дозі 5 Гр спостерігалось різке зниження кількості хлорофілу  $b$ , яка на даній стадії становила 38,0%, що на 59,6% нижче, ніж на попередній стадії (С3). Вміст хлорофілу  $a$  знизився менше і становив 52,2% (див. табл. 2, рис. 2). Співвідношення  $a/b$  дорівнювало 3,62 (див. табл. 4).

При дозі 15 Гр, як і на попередніх стадіях, вміст пігментів був низьким: хлорофілу  $a$  20,7%, хлорофілу  $b$  та 23,8%, зменшувався відповідно до вікових темпів розпаду пігменту (див. табл. 2, рис. 2). Для цієї дози характерно рівномірне зменшення хлорофілів  $a$  та  $b$ . Співвідношення  $a/b$  дорівнювало 2,30 (див. табл. 4).

Опромінення викликає комплекс реакцій фотосинтетичного апарату, зокрема зміни пігментного складу рослини. Отримані дані свідчать про стресовий характер іонізуючого опромінення. Аналіз вмісту хлорофілів у листках показав, що опромінені зразки в обраному діапазоні доз відрізнялися за кількісними характеристиками пігментного складу порівняно з контролем.

Відмічалось очікуване достовірне зниження вмісту хлорофілу *a*, хлорофілу *b* та суми хлорофілів в онтогенезі як дослідних, так і контрольних зразків. Особливо в усіх досліджуваних зразках було виражено зниження вмісту хлорофілу *a* порівняно з контролем у процесі старіння. Зменшення співвідношення хлорофілів *a/b* може виступати показником реакції пластид на процеси радіаційно-індукованого старіння.

Згідно з даними літератури, вміст суми хлорофілів в листках коливається в межах 0,3–5 мг/г біоматеріалу, залежно від умов вирощування та виду рослини [6]. Вміст хлорофілу *a* в листках приблизно в 3 рази більший, ніж хлорофілу *b*. У міру переходу від одного етапу органогенезу до іншого змінюється склад пігментів. Зниження вмісту в листках хлорофілу є одним з важливих показників старіння, а обумовлена опроміненням деградація хлорофілу може свідчити про прискорення гідролітичних реакцій та розвиток радіаційно-індукованого старіння [1, 3, 11].

Дози від 1 до 15 Гр опромінення виявили певні ефекти. Максимальний вміст суми хлорофілів *a + b* відмічено в зразках, опромінених дозою 5 Гр. Доза в 5 Гр сприяла збільшенню вмісту хлорофілу в листках. Це не суперечить літературним даним, оскільки в ряді робіт відмічається позитивний ефект опромінення. Дана доза справляла стимулюючу дію на вміст хлорофілів *a* та *b* досліджуваних об'єктів [3]. Причому кількість хлорофілу в даних зразках перевищувала показники контрольних зразків тільки на стадіях С1 і С2. У процесі в'янення вміст достовірно зменшувався, як і в інших зразках. Доза 5 Гр — ключова для прояву ушкодження іонізуючою радіацією та активації репараційних систем. Співвідношення хлорофілів *a/b* знижувалося при 1 та 15 Гр. Максимум хлорофілу *a* відмічався в молодих листках, мінімум — на стадії старіння листка. Максимальний вміст хлорофілу *b* відмічено на стадії С2.

Вплив дози 1 Гр супроводжувався різкими змінами досліджуваних показників та визначається як пороговий для реалізації пошкодження, викликаного радіацією. Вміст хлорофілу *a* опромінених рослин при дозі 1 Гр сильно знижувався, однак при опроміненні 3 Гр знаходився в межах контрольних значень. Вміст хлорофілу *b* під дією дози 1 Гр також різко знижувався, а при дозах 3 і 5 Гр змінювався незначно. Реакцію на дозу 1 Гр на стадії С1 можна пояснити відповіддю рослин на малі дози опромінення. Варто відзначити, що опромінення в дозі 15 Гр на стадії С1 не викликало ефектів більш різкого зменшення хлорофілу порівняно з дозою 1 Гр. Опромінення у високій дозі спричинило зниження вмісту пігментів, що прискорило процеси природного старіння листків. Про це свідчить зниження вмісту хлорофілів *a* та *b*, починаючи зі стадії С2. Це спостереження співвідноситься з літературними даними про нелінійне наростання ефекту від радіаційного опромінення [12]. На наступних стадіях — С2, С3, С4 в зразках, опромінених дозою 15 Гр, спостерігався найменший вміст пігментів. Проведений аналіз показав, що існує зв'язок між вмістом пігментів та радіаційно-індукованим старінням.

Зниження вмісту хлорофілів, яке спостерігається, можливо, обумовлене ослабленням життєздатності рослини при ураженні іонізуючою радіацією. Структурно-функціональні зміни організму, викликані опроміненням, спричиняють падіння фотосинтетичної активності. Як вже зазначалося, вплив іонізуючої радіації викликає зменшення вмісту хлорофілів та прискорює старіння листка. Нами показано, що вміст зелених пігментів як у контролі, так і в опромінених зразках достовірно знижується в процесі старіння.

Відзначимо, що через методичну складність дослідження старіння на цілісних рослинних організмах для аналізу найчастіше використовують ізольовані та інтактні органи рослин. Ще мало вивчено питання оцінки дії екологічних факторів, що впливають на реаліза-



цію ендогенної регуляції старіння рослинних органів. Ми досліджували вплив іонізуючого опромінення на процеси старіння рослинних органів, що детектується за змінами концентрації пігментів.

Результати дослідження ефекту опромінення проростків різними дозами іонізуючого випромінювання показали наявність помітних змін вмісту хлорофілів *a* та *b* в інтактних сім'ядольних листках *Linum usitatissimum* на різних стадіях їх онтогенезу. Значні зміни у вмісті хлорофілів *a*, *b* та значення їх співвідношення відмічені при рентгенівському опроміненні в дозах 5 та 15 Гр. Вплив інших використаних доз менше діяв на вміст пігментів пластид. Найбільш чутливими до дії радіаційного опромінення виявилися рослини на стадії С1. На наступних стадіях спостерігалось прискорення темпів деградації сумарного хлорофілу в зразках, опромінених найвищою дозою — 15 Гр. У всіх зразках вміст хлорофілу *a* був більшим, ніж хлорофілу *b*, що свідчить про більш швидкий розпад останнього. Встановлено, що мішенню рентгенівського опромінення був хлорофіл *b*. Спостерігалось явище радіаційно-індукованого старіння.

1. Sakuraba Y., Schelbert S., Park S.-Y. STAY-GREEN and Chlorophyll Catabolic Enzymes Interact at Light-Harvesting Complex II for Chlorophyll Detoxification during Leaf Senescence in Arabidopsis // J. ListPlant Cellv. – 2012. – **24**, No 2. – P. 507–518.
2. Kenneth J. H., Eggink L., Chen M. Chlorophylls, ligands and assembly of light-harvesting complexes in chloroplasts // Photosynth. Res. – 2007. – **94**. – P. 387–400.
3. Широкова Н. П. Действие картолина на содержание хлорофилла, рост и продуктивность сортов пшеницы Омская-23 и Росинка // Вестн. ТГПУ. – 2010. – **3**, № 93. – С. 18–21.
4. Arbona V., Manzi M., Ollas C. Metabolomics as a Tool to Investigate Abiotic Stress Tolerance in Plants // Int. J. Mol Sci. – 2013. – **14**, No 3. – P. 4885–4911.
5. Rea G., Lambrevia M., Polticelli F. Directed Evolution and In Silico Analysis of Reaction Centre Proteins Reveal Molecular Signatures of Photosynthesis Adaptation to Radiation Pressure // PLoS One. – 2011. – **6**, No 1. – P. 1–11.
6. Воейков А. И. Антропогенное воздействие человека на природу. – Москва: Мир, 1987. – 496 с.
7. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes // Methods Enzymol. – 1987. – **148**. – P. 350–382.
8. Sakuraba Y., Tanaka R., Yamasato A. Determination of a Chloroplast Degron in the Regulatory Domain of Chlorophyllide a Oxygenase // J. Biol. Chem. – 2009. – **284**, No 52. – P. 36689–36699.
9. Eggink L. L., Park H., Hooper J. K. The role of chlorophyll b in photosynthesis: Hypothesis // Plant Biol. – 2001. – **1**, No 2. – P. 1–7.
10. Biswal A. K., Pattanayak G. K., Pandey S. Light Intensity-Dependent Modulation of Chlorophyll b Biosynthesis and Photosynthesis by Overexpression of Chlorophyllide a Oxygenase in Tobacco // Plant Physiol. – 2012. – **159**, No 1. – P. 433–449.
11. Park S.-Y., Yu J.-W., Park J.-S. et al. The Senescence-Induced Staygreen Protein Regulates Chlorophyll Degradation // Plant Cell. – 2007. – **19**, No 5. – P. 1649–1664.
12. Гродзинский Д. М., Гуца Н. И., Перковская Г. Ю. и др. Влияние хронического облучения на адаптивный потенциал растений // Радиобиология растений. – 2002. – **42**, № 2. – С. 155–158.

Інститут клітинної біології  
та генетичної інженерії  
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 08.08.2014

**А. Н. Берестяная, академик НАН Украины Д. М. Гродзинский**

**Динамика хлорофилла в процессе старения семядольных листьев  
*Linum usitatissimum*, облученного рентгеновской радиацией**

*Исследовали динамику хлорофилла в процессе старения семядольных листьев *Linum usitatissimum*, подвергнутого действию разных доз острого рентгеновского облучения. Установлена зависимость деградации хлорофилла а и хлорофилла b от дозы облучения и стадии онтогенеза семядольных листьев. Рассмотрены особенности распада хлорофилла как одного из параметров радиационно-индуцированного старения.*

**A. M. Berestyana, Academician of the NAS of Ukraine D. M. Grodzinsky**

**Dynamics of chlorophyll in aging cotyledon leaves of *Linum usitatissimum* exposed to x-ray radiation**

*The dynamics of the chlorophyll pattern during aging cotyledons *Linum usitatissimum* irradiated with different doses of acute X-ray irradiation is investigated. The dependence of the degradation of chlorophyll a and chlorophyll b on doses and ontogenetic stages of cotyledon leaves is found. The features of the decay of chlorophyll as one of the parameters of radiation-induced aging are considered.*