УДК 577.34 http://dx.doi.org/10.15407/dopovidi2016.04.106

О. М. Міхєєв[1], **Л. Г. Овсяннікова**[1], **Л. В. Войтенко**[2], **В. В. Жук**[1], академік НАН України **Д. М. Гродзинський**[1]

[1]Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ
[2]Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ

E-mail: mikhalex7@yahoo.com, phytohormonology@ukr.net

Системність механізмів радіогормезисних ефектів у рослин

За дозовою залежністю ростових параметрів головного кореня проростків гороху встановлено діапазон гормезисних доз гамма-опромінення. Оцінено мітотичний індекс (МІ) клітин апікальної меристеми кореня, рівень цитокінінів та α-амілазної активності в сім'ядолях контрольних та дослідних проростків. В опромінених коренях виявлено стимуляцію МІ та підвищений рівень синтезу цитокінінів, який передує стимуляції МІ, що підтверджує гіпотезу про можливу роль продуктів пострадіаційної деградації ДНК в стимуляції синтезу цитокінінів. На підставі результатів вивчення динаміки α-амілазної активності в сім'ядолях проростків гороху зроблено висновок про відносну незалежність ростової активності коренів від трофічного фактору на ранніх етапах розвитку проростків.

Ключові слова: гамма-опромінення, радіогормезис, мітотична активність, цитокініни, α-амілаза.

Радіогормезисні ефекти (РГЕ) виявлені у всіх груп організмів і характеризуються стимуляцією фізіологічних функцій після дії невисоких доз іонізуючого випромінювання [1, 2]. Дослідження ефекту радіаційного гормезису виявили комбінований характер формування даної неспецифічної реакції [3, 4]. Прикріплений спосіб існування рослин зумовив посилення здатності реагування на стресові чинники середовища і виникнення специфічних механізмів підтримання гомеостазу на різних рівнях його прояву [5]. Головна роль у формуванні відповіді на стресові чинники у рослин належить сигналам, які надходять з коренів. До найважливіших компонентів даної сигнальної системи належать фітогормони цитокініни, зокрема зеатин і його транспортна форма — зеатин-рибозид [5]. Зеатини специфічно синтезуються коренями, однак їх рецептори локалізовані в клітинах пагона, які беруть безпосередню участь у формуванні реакції рослинного організму в цілому. Незважаючи на значний інтерес до проблеми участі цитокінінів у адаптації рослин до стресів їх роль у проявах радіаційного гормезису залишається майже не з'ясованою.

За результатами проведеного нами раніше дослідження адаптації рослин до дії іонізуючої радіації виявлено гормезисну дію гамма-опромінення на інтактний рослинний організм [6]. Метою даного дослідження було вивчення механізму РГЕ у рослин гороху, сухе насіння якого було опромінено гамма-променями.

Об'єктом дослідження служив горох (*Pisum sativum* L.) сорту Ароніс, насіння якого у повітряно-сухому стані опромінювали в дозах 2, 5, 10, 50 Гр на гамма-опромінювачі "Исследователь" з ^{60}Co джерелом гамма-променів, потужністю дози опромінення на відстані

© О. М. Міхєєв, Л. Г. Овсяннікова, Л. В. Войтенко, В. В. Жук, Д. М. Гродзинський, 2016

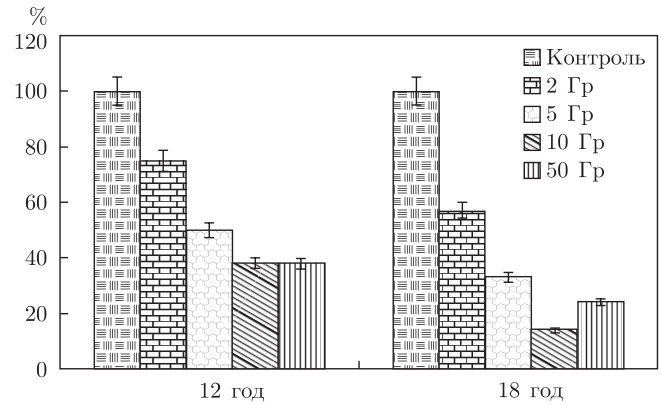

Рис. 1. Активність α-амілази в сім'ядолях проростків гороху сорту Ароніс після опромінення сухого насіння (% до контролю)

0,5 м 3,4 Р/с, енергією гамма-квантів 1,25 МеВ. Насіння пророщували на зволоженому водою фільрувальному папері. Проростки вирощували в умовах водної культури. Через 12, 24, 48, 72 год від початку пророщування насіння відділяли первинні корені для визначення вмісту цитокінінів зеатинового типу. Вміст зеатинів визначали методом рідинної хроматографії на хроматографі Agilent 1200 LC з діодно-матричним детектором G 1315B ("Agilent", США) і вираховували у нМ/г сирої маси [7]. Одночасно визначали активність α-амілази в сім'ядолях крохмаль-йодним методом [8]. Результати розраховували в умовних одиницях. Меристеми коренів фіксували в суміші Карнуа (етиловий спирт: оцтова кислота 3 : 1) протягом 2 год. Виготовлення і фарбування препаратів проводили за стандартною гістологічною процедурою [9]. Мітотичну активність клітин кореневої меристеми визначали за кількістю клітин у мітозі (МІ — мітотичний індекс), при цьому враховували не менше 1000 клітин на кожному препараті. Після початку пророщування протягом чотирьох діб вимірювали довжину первинних коренів, яку виражали у відсотках відносно до контролю. Результати оброблені статистично за допомогою програми ANOVA.

Вивчення активності α-амілази в сім'ядолях гороху після дії гамма-опромінення в період проростання насіння свідчить про зростання її інгібування зі збільшенням дози (рис. 1). При цьому пригнічення активності ферменту на 18 год від початку замочування зерна було значнішим, ніж на 12 год.

Після дії дози 5 Гр, яка виявляла гормезисну дію, було визначено сумарний вміст цитокінінів у первинному корені протягом 36 год від початку набрякання зерна (рис. 2). Вміст цитокінінів у корені в дослідному варіанті порівняно з контролем значно збільшився після 20 год проростання і продовжував підвищуватися до 24 год.

Мітотична активність клітин меристеми первинного кореня до 20 год від початку проростання зерна не визначалась у контрольному та дослідному варіантах (рис. 3).

На 24 год пророщування кількість клітин у мітозі в дослідному варіанті зростала і перевищувала рівень контролю на 80% і більше, що свідчить про стимуляцію проліферативних процесів.

За результатами дослідження динаміки росту первинного кореня встановлено, що найзначніша стимуляція ростових процесів відбувалася через 2 доби після опромінення сухого насіння у дозі 5 Гр, однак РГЕ отримано після опромінення зерна також у інших дозах (рис. 4).

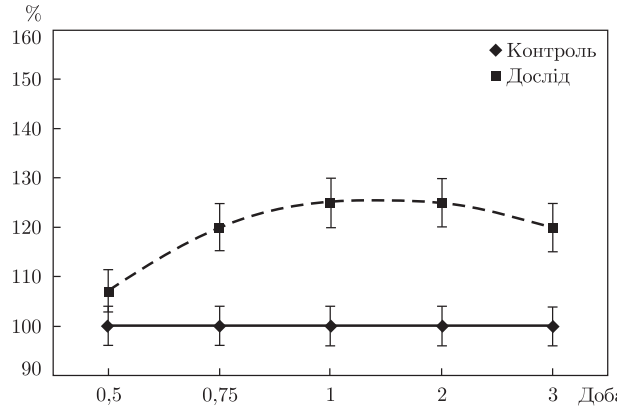

Рис. 2. Динаміка вмісту цитокінінів у корені проростків гороху сорту Ароніс після опромінення сухого насіння у дозі 5 Гр (% до контролю)

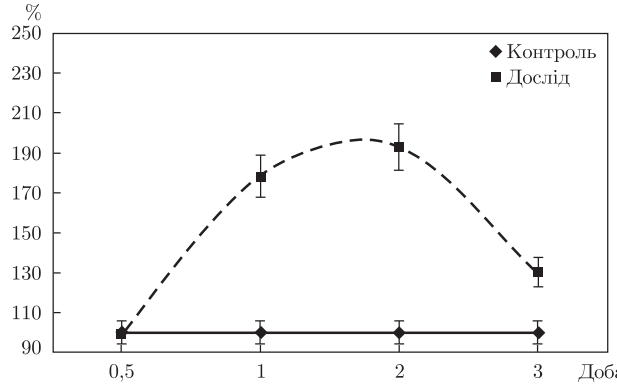

Рис. 3. Динаміка мітотичної активності (МІ) клітин меристеми кореня проростків гороху сорту Ароніс після опромінення сухого насіння у дозі 5 Гр (% до контролю)

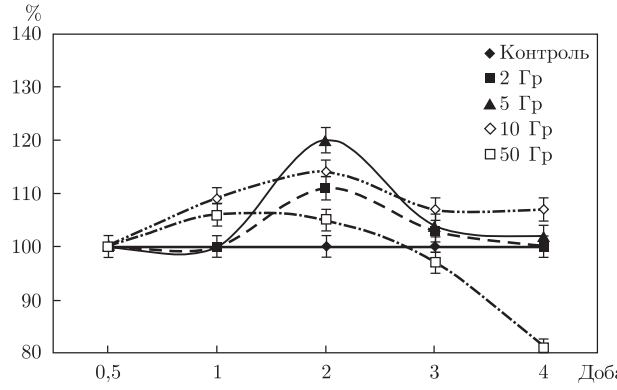

Рис. 4. Динаміка росту первинного кореня проростків гороху сорту Ароніс після опромінення сухого насіння різними дозами гамма-радіації (% до контролю)

Отримані нами результати дають підставу вважати, що дія гамма-променів на насіння гороху в стані спокою здатна спричиняти гормезисний ефект у період його проростання. При цьому зменшення активності α-амілази в сім'ядолях після опромінення зернівок у дозі 5 Гр не призвело до інгібування проліферативних процесів у меристемі первинного кореня,

що свідчить про включення альтернативних ресурсів метаболітів і енергії. Підтвердженням цього стала також стимуляція ростових процесів. Одним з ключових механізмів, які лежать у основі явища радіаційного гормезису, можна вважати активацію фітогормонального комплексу, зокрема цитокінінів зеатинового типу. Взаємодія фітогормонів з компонентами сигнальної мережі на рівні клітини, тканини та організму в цілому забезпечує інтегральну відповідь рослини на стресовий чинник.

Отже, у формуванні явища радіаційного гормезису задіяно комплекс механізмів, які утворюють комплексну систему і в результаті забезпечують відновлення ушкоджень і компенсаторний ефект посилення ростової функції рослини.

Цитована література

1. *Calabrese E. J., Baldwin L. A.* Radiation hormesis: origins, history, scientific foundation // Hum. Exp. Toxicol. – 2000. – **19**, No 1. – P. 41–75.
2. *Lucky T. D.* Radiation Hormesis. – Tokyo, Boca Raton: CRC Press, 1991. – 239 p.
3. *Кузин А. М.* Идеи радиационного гормезиса в атомном веке. – Москва: Наука, 1995. – 158 с.
4. *Гродзинский Д. М.* Адаптивная стратегия физиологических процессов растений. – Киев: Наук. думка, 2013. – 301 с.
5. *Sakakibara H.* Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation // Annu. Rev. Plant Biol. – 2006. – **57**. – P. 431–449.
6. *Міхєєв О. М., Овсяннікова Л. Г., Євдокимова С. О.* Можлива роль надклітинних механізмів у радіоадаптаційних ефектах рослин // Вісн. Харків. Нац. ун-ту ім. В. Н. Каразіна. Сер. біологія. – 2012. – Вип. 15, № 1008. – С. 233–243.
7. *Мусатенко Л. И., Веденичева Н. П., Васюк В. А., Генералова В. Н., Мартын Г. И., Сытник К. М.* Комплекс фитогормонов в проростках различных по устойчивости к повышенным температурам гибридов кукурузы // Физиология растений. – 2003. – **50**. – С. 499–504.
8. *Fursov O. V., Khaidarova G. S., Darkanbayev T. B.* Purification, separation and some properties of α-amylase component of germinating wheat grains // Biochem. Physiol. Pflanzen. – 1986. – **181**. – P. 177–187.
9. *Паушева З. П.* Практикум по цитологии растений. – Москва: Агропромиздат, 1988. – 271 с.

References

1. *Calabrese E. J., Baldwin L. A.* Hum. Exp. Toxicol., 2000, **19**, No 1: 41–75.
2. *Lucky T. D.* Radiation Hormesis, Tokyo: Boca Raton Publ., CRC Press, 1991.
3. *Kyzin A. M.* Ideas of radiation hormesis in the atomic age, Moscow: Nauka, 1995 (in Russian).
4. *Grodzinsky D. M.* Adaptive strategies of plant physiological processes, Kiev, Nauk. dymka, 2013 (in Russian).
5. *Sakakibara H.* Annu. Rev. Plant Biol., 2006, **57**: 431–449.
6. *Mikhyeyev O. M., Ovsyannikova L. G., Evdokimova S. O.* J. V. N. Karazin Kharkiv National University. Ser. biology, 2012, Iss. 15, No 1008: 233–243 (in Ukrainian).
7. *Musatenko L. I., Vedenicheva N. P., Vasyuk V. A., Generalova V. N., Martyn G. I., Sytnik K. M.* Russian J. Plant Physiol., 2003, **50**: 444–448.
8. *Fursov O. V., Khaidarova G. S., Darkanbayev T. B.* Biochem. Physiol. Pflanzen, 1986, **181**: 177–187.
9. *Pausheva Z. P.* Practical work on plant cytology, Moscow: Agropromizdat, 1988 (in Russian).

Надійшло до редакції 22.09.2015

А. Н. Михеев[1], **Л. Г. Овсянникова**[1], **Л. В. Войтенко**[2], **В. В. Жук**[1],
академик НАН Украины **Д. М. Гродзинский**[1]

[1]Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев
[2]Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украини, Киев

E-mail: mikhalex7@yahoo.com, phytohormonology@ukr.net

Системность механизмов радиогормезисных эффектов у растений

По дозовой зависимости ростовых параметров главного корня проростков гороха установлен диапазон гормезисних доз гамма-излучения. Определены митотический индекс (МИ) клеток апикальной меристемы корня, уровень цитокининов и α-амилазной активности в семядолях контрольных и опытных проростков. В облученных корнях выявлены стимуляция МИ и повышенный уровень синтеза цитокининов, который предшествует стимуляции МИ, что подтверждает гипотезу о возможной роли продуктов пострадиационной деградации ДНК в стимуляции синтеза цитокининов. На основании результатов изучения динамики α-амилазной активности в семядолях проростков сделан вывод об относительной независимости ростовой активности их корней от трофического фактора на ранних этапах развития проростков.

Ключевые слова: гамма-излучение, радиогормезис, митотическая активность, цитокинины, α-амилаза.

A. N. Mikhyeyev[1], **L. G. Ovsyannikova**[1], **L. V. Voitenko**[2], **V. V. Zhuk**[1],
Academician of the NAS of Ukraine **D. M. Grodzinsky**[1]

[1]Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the NAS of Ukraine, Kiev
[2] M. G. Kholodny Institute of Botany of the NAS of Ukraine, Kiev

E-mail: mikhalex7@yahoo.com, phytohormonology@ukr.net

The system character of the mechanisms of radiohormesis effects in plants

The range of hormesis doses of gamma -irradiation by the dose dependence of the growth parameters of the main roots of pea seedlings is established. The mitotic index (MI) of cells of the apical meristem of a root, the levels of cytokinins, and the α-amylase activity in cotyledons of seedlings are assessed in control and experience. In the exposed roots, the stimulation of MI and the increased level of synthesis of cytokinins that precedes the stimulation of MI are observed. This confirms the hypothesis about the possible role of post-radiation degradation products of DNA in the synthesis of cytokinins. The results of studies of the dynamics of the α-amylase activity in cotyledons of pea seedlings lead to the conclusion about the relative independence of the growth activity of roots on the trophic factor on the early stages of development of seedlings.

Keywords: gamma-irradiation, radiohormesis, mitotic activity, cytokinins, α-amylase.