

УДК 632.118.3(045)

¹О.М. Тихенко, асист.
²О.М. Міхєєв, д.б.н., с.н.с.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОГЛИНАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ РОСЛИН В УМОВАХ ВПЛИВУ СТРЕСОРІВ ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДУ ЗАЛИШКОВОЇ РАДІОАКТИВНОСТІ

¹Національний авіаційний університет²Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України¹E-mail: okstih@ua.fm²E-mail: mikhalex7@yahoo.com

Досліджено поглинальну здатність проростків гороху сорту Ароніс щодо радіонуклідів під дією стрес-фактора – УФ-опромінення. Оцінено в динаміці інтегральний стан опромінених проростків гороху. Проаналізовано ефективність застосування методу залишкової радіоактивності для дослідження поглинальної здатності рослин під дією стрес-фактора.

Ключові слова: гормезис, залишкова радіоактивність, поглинальна здатність, стрес, стресуючий фактор, УФ-опромінення.

Постановка проблеми

Серед численних природних та антропогенних факторів, які негативно впливають на природні екосистеми та на людину, одним із найважливіших є іонізуюче випромінювання, зумовлене підвищеним вмістом радіонуклідів [1; 2].

Деякі види рослин здатні нагромаджувати ті чи інші елементи в підвищеній кількості. Використання таких рослин для очищення ґрунтів є основою технології фітодезактивації [3–7].

Проте при високому рівні здатності рослин поглинати радіонукліди ефективність цього методу не завжди досить висока, тому існує необхідність і можливість суттєво підвищувати цю здатність за допомогою факторів фізичної природи, зокрема за допомогою УФ-опромінення. Це зумовлює необхідність дослідження механізмів впливу УФ-опромінення на рослинні об'єкти.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Реакцію рослинних об'єктів на дію факторів різноманітної природи вивчає стрес-фізіологія рослин [8].

Концепція стресу була сформульована канадським вченим Г. Сель'є в 1936 р. Він з'ясував, що за умов впливу на організми різноманітних подразників спостерігаються не лише специфічні ознаки реагування, а й неспецифічні. Крім того, Г. Сель'є встановив існування двох типів стрес-реакції:

- дистрес, за яким спостерігається пригнічення стану об'єктів впливу;
- еустрес, за яким спостерігається підвищення рівня їх життєздатності.

Власне еустрес є проявом гормезисної дії стрес-фактора. Найчастіше, під гормезисом розуміють стимуляцію будь-яких біосистем низькими дозами різних факторів за параметрами, що характеризують їх життєдіяльність.

Фактично, концепція гормезиса міститься вже в законі Арндта-Шульца, згідно з яким біологічні системи протилежно реагують на зовнішні малі і великі дози факторів.

Один із перших дослідників радіаційного гормезиса Т. Лакі проводив експериментальні дослідження цього явища і опублікував перший огляд по радіаційному гормезису [1]. Результати багатьох ранніх досліджень Т. Лакі були не завжди відтворювальними, оскільки не існувало достатньо адекватної дозиметрії, використовувалися недостатні за об'ємом вибірки і не було здійснено відповідного статистичного аналізу. Проте велика кількість експериментальних даних зберегли своє значення і на сьогодні. Сам факт існування ефекту радіаційного гормезиса не підлягає сумніву.

Мета роботи – дослідження впливу УФ-С-опромінення на поглинальну здатність рослинних об'єктів щодо радіонуклідів шляхом реєстрації стану біологічних об'єктів в умовах дії стресорів – метод залишкової радіоактивності, що ґрунтується на вимірюванні поглинання хімічного аналога калію – ¹³⁷Cs, внесеного в складі хлориду в культуральне середовище.

Запропонований метод дозволив оцінити в динаміці інтегральний стан опромінених проростків гороху.

Метод залишкової радіоактивності

Метод залишкової радіоактивності дозволяє без пошкодження рослин достатньо оперативно визначати їх поточний стан у нормі та під дією різноманітних стресорів.

Ідея методу полягає в тому, щоб використовувати радіоізотоп ^{137}Cs як хімічний аналог калію.

Суть методу – визначення сорбційної активності рослинних об'єктів за часткою (відсотком) радіоактивності, яка залишається в культуральному середовищі після певного періоду інкубації в ньому досліджуваного об'єкта.

Науковим підґрунтям цього методу є встановлені факти прямого зв'язку стану рослинного об'єкта з його поглинальною здатністю, що виявляється за поглинанням ^{137}Cs з водного розчину його хлориду [5–7].

УФ-С-опромінення цілих проростків, які були розміщені в чашках Петрі на зволоженому фільтрувальному папері, проводили за допомогою лампи типу ОБМ-150м за потужності $3,4 \text{ Вт/м}^2$. Відстань від джерела до проростків 25 см.

Відразу після опромінення контрольні і дослідні проростки гороху сорту Ароніс розміщували на 0,5 л посудинах із радіоактивним культуральним середовищем, питома активність якого за ^{137}Cs становила біля 1500 кБк/л. Як культуральне середовище використовували розчин хлориду ^{137}Cs у відстояній воді з водогону. Періодично в процесі інкубації рослин проводили заміри активності розчину.

Вимір залишкової радіоактивності здійснювали за допомогою гамма-спектрометра СЕГ-05, в якому як детектор використаний монокристал NaI.

Перед кожним виміром активності середовища її повністю переливали в посудину Марінеллі (об'єм 0,5 л).

Після виміру радіоактивності культурального середовища її повертали в ємність із рослинами, які протягом часу виміру радіоактивності знаходилися в посудинах із водою без внесеної активності.

Вимір радіоактивності проводили до того моменту, коли помилка виміру становила 3 %.

Для дослідження впливу опромінення на ростові характеристики кожні два дні вимірювали довжину головного кореня проростків.

Розрахунки величини залишкової активності культурального середовища проводили так:

– розраховували активність проби, яка складається з активності фону $A_{\text{ф}}$ і активності зразка $A_{\text{зр}}$:

$$A_{\text{зр}} = A_{\text{пр}} - A_{\text{ф}};$$

– початкову активність зразка $A_{\text{поч}}$ брали за 100 %;

– розрахунки проводили відносно контролю у відповідний момент часу вимірювання:

$$A_{\text{зал}} = A_{\text{зр}(i)} / A_{\text{вих}(i)} 100;$$

– поглинальна активність дорівнювала:

$$A_{\text{п}} = 100 - A_{\text{зал}};$$

– поглинальну активність опромінених проростків нормували на відповідну в часі поглинальну активність контрольного варіанту:

$$A_{\text{п.н}} = A_{\text{п.д}} / A_{\text{п.к}} 100.$$

Отримані таким чином оцінки поглинальної активності контрольних $A_{\text{п.к}}$ і дослідних $A_{\text{п.д}}$ варіантів використовували для побудови дозових і часових залежностей.

Ростову активність проростків гороху визначали за динамікою абсолютної довжини їх органів або за індексом росту органів шляхом віднесення поточної довжини органу до його вихідної довжини (у відсотках).

На першому етапі досліджень було виявлено, що в діапазоні використаних доз УФ-С-опромінення проростків гороху ($0,4\text{--}4,1 \text{ кДж/м}^2$) спостерігається гормезисний ефект за ростовими характеристиками як кореня, так і стебelloї частини проростків гороху (рис. 1).

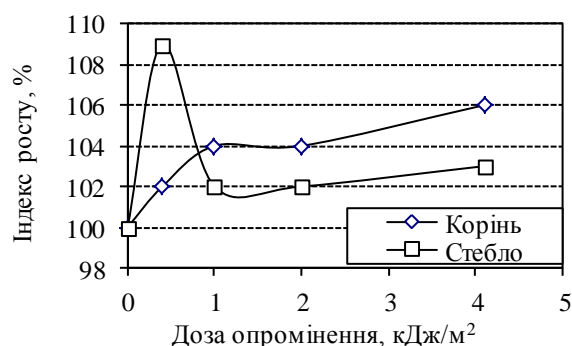


Рис. 1. Дозова залежність індексу росту коренів і стебел проростків гороху на третю добу після УФ-С-опромінення 4-добових проростків

Факт, що помітної сорбції за умов відсутності рослин немає, дав підстави використовувати в подальшому запропонований метод для тестування стану рослин (рис. 2).

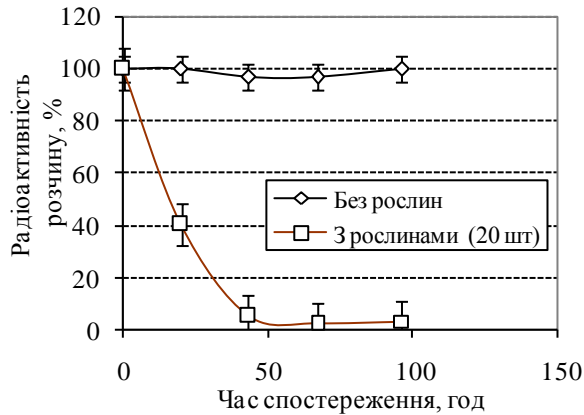


Рис. 2. Динаміка радіоактивності в присутності та у відсутності рослин

Наступним етапом досліджень була оцінка поглинальної здатності проростків гороху після УФ-С-опромінення щодо ^{137}Cs при безперервній інкубації опромінених проростків на розчині хлориду ^{137}Cs (рис. 3, 4).

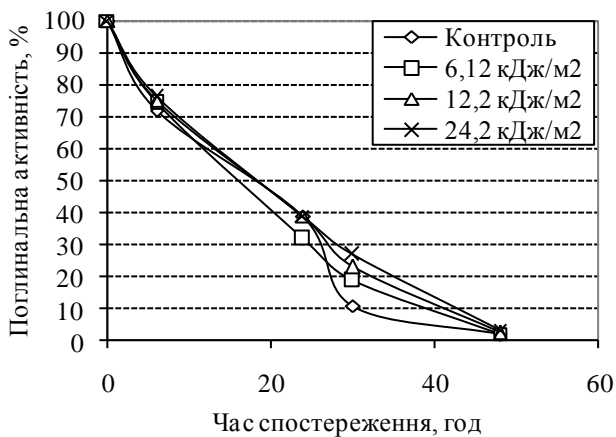


Рис. 3. Динаміка впливу УФ-С-опромінення на поглинальну здатність проростків гороху

Інгібування поглинальної здатності проростків спостерігається на фоні інгібування ростової активності стебел (позитивна кореляція) і на фоні деякої стимуляції ростової активності кореневої системи (від'ємна кореляція) проростків гороху.

Як видно з рис. 1–4, УФ-С-опромінення проростків здатне інгібувати поглинальну здатність проростків, яка відновлюється до другої доби після опромінення.

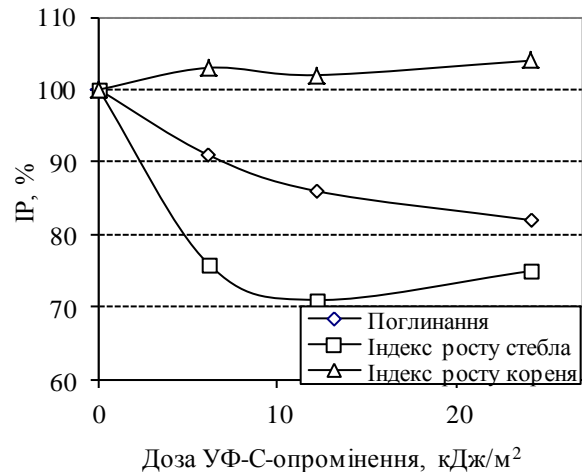


Рис. 4. Дозова залежність впливу УФ-С-опромінення на поглинальну здатність проростків гороху та ростову активність їх органів

Динаміка ростової активності має дещо інший характер.

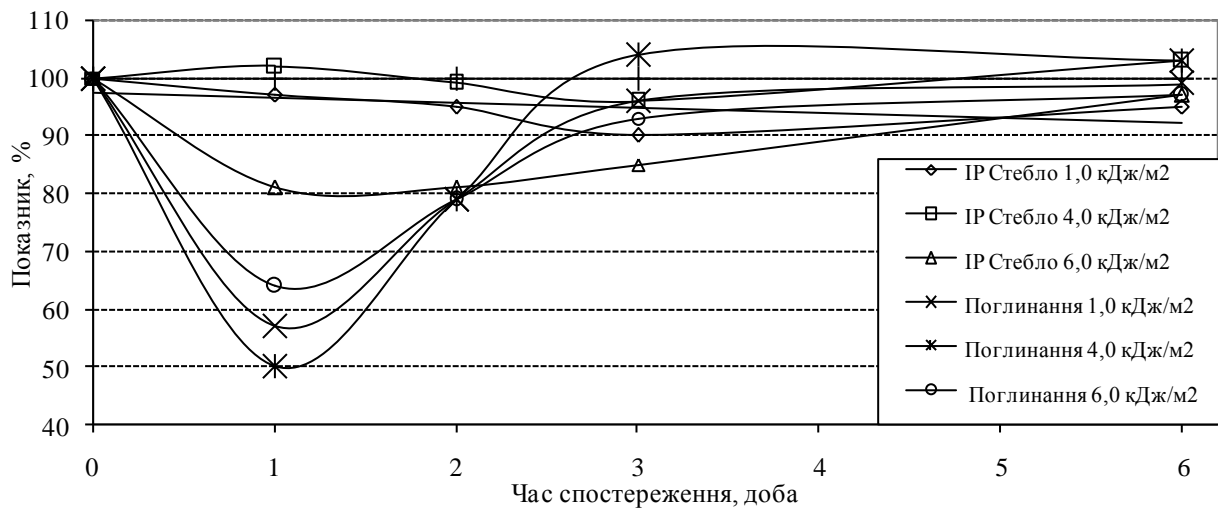
У той час, як поглинальна здатність повністю відновлюється, ростова активність ще залежить від опромінення.

Таким чином, безпосередній вплив опромінення на поглинальну здатність проростків гороху достатньо швидко нівелюється і майже не відрізняється від контрольного рівня. Фактично спостерігається відновлення параметру, що характеризує поглинальну здатність опромінених варіантів.

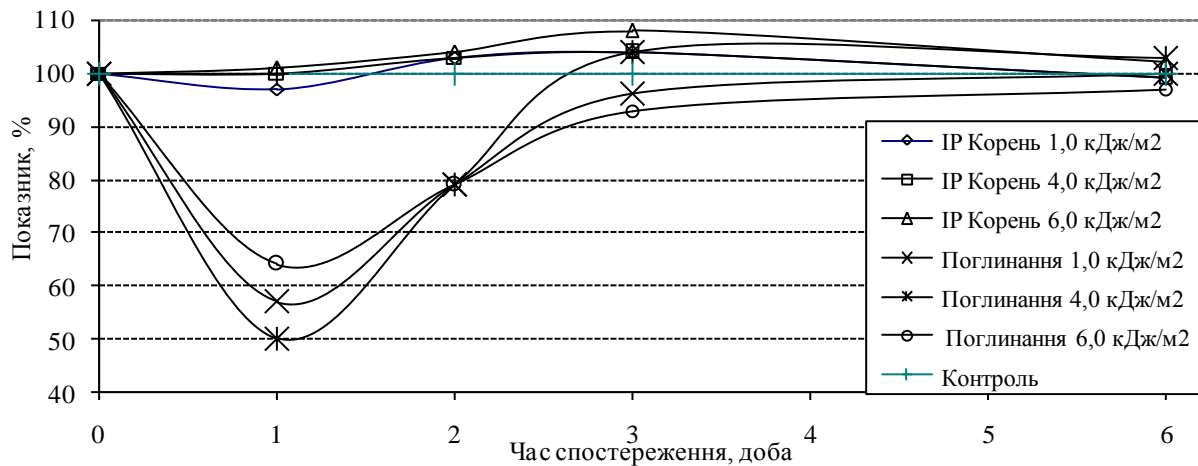
З одного боку, це можна пояснити справжнім відновленням поглинальної здатності, а з другого – виснаженням розчину радіоцезію, питома активність якого не підтримувалася на постійному рівні.

Для перевірки цих припущень використовували метод залишкової радіоактивності в схемі імпульсного застосування радіоактивної мітки, коли опромінені рослини перебували не весь час в присутності радіоактивної мітки, а лише короткий термін (2 год), що дало можливість більш тривалий час досліджувати динаміку зміни поглинальної активності на фоні суттєво меншої швидкості зменшення активності середовища (рис. 5).

Із рис. 5 видно, що динаміка ростової активності та динаміка поглинальної активності, визначеної імпульсним методом, не збігаються.



a



b

Рис. 5. Динаміка поглинання радіоцезію та ростової активності (індексу росту –ІР) стебла (а) та кореня (б) опромінених 4-добових проростків гороху

Відновлення поглинальної здатності відбувається на третю добу пострадіаційного періоду на фоні продовження інгібування ростової активності стеблової частини проростків та деякої стимуляції ростової активності коренів, що відмічалось і раніше.

Таким чином, якщо оцінювати прогностичні можливості методу залишкової активності, то, по-перше, його слід використовувати у варіанті імпульсної інкубації проростків в присутності радіоактивної мітки і, по-друге, враховувати те, що інгібування поглинальної активності певною дозою стресору відбувається на дві доби раніше, ніж фіксується стан інгібування ростової активності.

Висновки

Для вивчення дозової залежності та динаміки відповіді рослин на дію УФ-С-опромінення запропоновано принципово новий метод, що дозволив безконтактним (без пошкодження рослин, неінвазивно) способом швидко отримувати інформацію про інтегральний стан рослини та її органів після дії стресуючого фактора – метод залишкової радіоактивності.

Метод залишкової радіоактивності заснований на вимірюванні поточної радіоактивності культурального середовища в процесі інкубації на ньому рослинних об'єктів.

Удосконалений метод (імпульсний) дозволяє отримати інформацію щодо рослин у стані стресу набагато раніше, ніж традиційними засобами, коли фіксуються переважно зміни ростових параметрів.

Література

1. *Васильев И.М.* Действие излучений на растения / И.М. Васильев. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 224 с.
2. *Гродзинський Д.М.* Радіобіологія / Д.М. Гродзинський. – К.: Либідь, 2000. – 448 с.
3. *Модифікація* доступності почвенного цезія-137 для рослин / Д.М. Гродзинський, С. Душенков, А.Н. Михеев и др. // Доповіді НАНУ. – 1997. – № 10. – С. 179–182.
4. *Костюк О.П.* Модифікація способности накопівать радіонукліди с помощью их стабільных ізотопов / О.П. Костюк, А.Н. Михеев, Ю.А. Кутлахмедов // Окружающая среда и здоровье; Укр. науч. гигиенический центр. – К. – Деп. в ГНТБ Украины. – 1993. – 10 с.
5. *Модифікація* способности растений накапливать радионуклиды / О.П. Костюк, А.Н. Михеев, Д.М. Гродзинский, Ю.А. Кутлахмедов // Докл. АН Украины. – 1993. – Вып. 8. – С. 162–165.
6. *Методи* управління радіємністю екосистем / Д.М. Гродзинський, Ю.О. Кутлахмедов, О.М. Міхеев та ін. – К.: Фітосоціоцент, 2006. – 172 с.
7. *Індуція* перехідних процесів як механізм модифікації нагромаджувальної здатності рослин / О.М. Міхеев, О.П. Костюк, Ю.О. Кутлахмедов та ін. // Доп. АН України. – 1995. – № 5. – С. 143–145.
8. *Косаківська І.В.* Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів / І.В. Косаківська. – К.: Сталь, 2003. – 192 с.

Стаття надійшла до редакції 13.03.2012.