

---

# ТЕОРЕТИКО-МЕТОДОЛОГІЧНІ ПИТАННЯ В ГАЛУЗІ ОХОРОНИ ДОВКІЛЛЯ

---

УДК 577.151.6:582.573.16

DOI <https://doi.org/10.32846/2306-9716-2019-3-26-14>

## ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ КОМПОНЕНТІВ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ HORDEUM VULGARE L.

Казначєєва М.С., Данилків О.М.

Центральноукраїнський державний педагогічний університет  
імені Володимира Винниченка  
вул. Шевченка, 1, 25006, м. Кропивницький  
[kazna4eeva@gmail.com](mailto:kazna4eeva@gmail.com), [danilkiv\\_o@ukr.net](mailto:danilkiv_o@ukr.net)

У статті розкрито значення прооксидантно-антиоксидантної системи для організму рослин і тварин. Визначено особливості її функціонування у тканинах рослин, залежність балансу вмісту прооксидантів та антиоксидантів у тканинах організму від впливу екологічних факторів середовища. Наголошено на недостатньому рівні систематизації наявної інформації про роль прооксидантно-антиоксидантної системи у забезпеченні стійкості рослин до патогенів. Експериментальним шляхом виявлено рівень і джерела генерації супероксиданіонрадикалу як основного прооксиданту; фонову та стимульовану концентрацію малонового діальдегіду як першочергового продукту перекисного окиснення ліпідів та активність цитохромоксидази як ключового ферменту, що є маркером рівня пошкодження мембран прооксидантами. Досліджено активність основних ферментних антиоксидантів: супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази. Виявлено рівень основних низькомолекулярних антиоксидантів: аскорбінової кислоти, глутатіону. Здійснено порівняльний аналіз всіх перерахованих показників у тканинах зернівки *Hordeum vulgare* різних за рівнем стійкості до хвороб сортів. Виявлено, що у високостійкого сорту відзначається як підвищений рівень генерації супероксиданіонрадикалу, так і найвища активність ферментних антиоксидантів і високий рівень низькомолекулярних антиоксидантів. Рівень пошкодження мембран тканин *Hordeum vulgare* високостійкого сорту незначний, про що свідчить найнижча концентрація малонового діальдегіду порівняно з результатами, встановленими для середньо- і малостійкого сорту. Протилежне значення показників виявлене у тканинах малостійкого сорту. З проведеного дослідження сформульовано висновки про взаємозалежність рівня стійкості сорту *Hordeum vulgare* до хвороб і вмісту прооксидантів та антиоксидантів у його тканинах. *Ключові слова*: прооксиданти, антиоксиданти, стійкість сорту рослин до хвороб, *Hordeum vulgare*.

### Research of the component of the prooxidant and antioxidant system of *Hordeum vulgare* L. Kaznachieeva M., Danylkiv O.

The value of the prooxidant-antioxidant system for the organism of plants and animals is revealed. The features of its functioning in plant tissues are noted. The dependence of the balance of the content of prooxidants and antioxidants in the body tissues from the influence of environmental factors of the medium is noted. It is emphasized that there is insufficient level of systematization of available information about the role of the prooxidant-antioxidant system in ensuring the resistance of plants to pathogens. Experimentally found: the level and sources of superoxide anion radical generation as the main prooxidant; background and stimulated concentration of malonic dialdehyde as the primary product of lipid peroxidation and cytochrome oxidase activity as a key enzyme marker of the level of membrane damage by prooxidants. The activity of the main enzyme antioxidants: superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase was studied. The level of basic low molecular weight antioxidants: ascorbic acid, glutathione has been revealed. A comparative analysis of all of these parameters in the tissues of *Hordeum vulgare* differing in the level of resistance to diseases of the varieties is carried out. It was found that in the tissues of plants variety with high level resistance to the diseases there is marked high level of generation of superoxide anion radical, and the highest activity of enzyme antioxidants and high level of low molecular weight antioxidants. The level of damage to the membranes of the barley grains tissues of high resistance to the diseases is small, as evidenced by the lowest concentration of malondialdehyde in comparison with the results established for medium and low-level resistance varieties. The opposite value of the indicators was found in the barley grains tissues of a labile to diseases variety. As a result of the study, conclusions were drawn on the interdependence between the level of resistance of the barley strain to diseases and the content of prooxidants and antioxidants in its tissues. *Key words*: prooxidants, antioxidants, plant resistance to diseases, *Hordeum vulgare*.

**Постановка проблеми.** Зміна величин показників ПАС характеризує всі фізіологічні та патологічні процеси рослинного організму, тому її кількісна оцінка є особливо актуальною в умовах погіршення

екологічної ситуації внаслідок антропогенного забруднення біосфери. Розуміння механізму імунізацію рослин і ролі в ньому компонентів ПАС відкриває перспективи їх використання і модифікації для

підвищення захисних сил організму, окреслює нове коло досліджень у галузі імунології, селекції, біотехнології та генної інженерії. В умовах несприятливої екологічної ситуації актуальним залишається кількісний вміст низькомолекулярних антиоксидантів і продуктів ВРПО, які надходять до нашого організму з продуктами харчування рослинного походження. Дослідження ролі АФО у протиінфекційному захисті тварин, процесах окисного вибуху, механізмах старіння й апоптозу відкрило перспективи пошуку аналогів у рослинному світі.

**Мета дослідження** – дослідити зміни показників стану прооксидантно-антиоксидантної системи тканин зернівок *Hordeum vulgare* L. залежно від їх рівня стійкості до хвороб.

**Актуальність дослідження.** Дослідження механізмів, які забезпечують підтримку високого імунного статусу рослин, є особливо актуальним в умовах несприятливої екологічної ситуації, що визначає створення імунного дефіциту не лише у людини та тварин, але й у рослин і викликає необхідність вивчення компонентів і факторів стійкості та ПАС рослинних об'єктів.

**Зв'язок авторського доробку з важливими науковими та практичними завданнями.** Для досягнення поставленої мети було визначено такі завдання:

1. Дослідити стан компонентів прооксидантної ланки тканин зернівок ячменю різних за рівнем стійкості сортів до хвороб.

2. Дослідити стан компонентів антиоксидантної ланки тканин зернівок ячменю різних за рівнем стійкості сортів до хвороб.

3. Встановити зв'язок між показниками стану ПАС і рівнем стійкості сорту рослин до хвороб.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Згідно з роботами К. Arpel і Н. Hirt у нормально функціонуючій клітині є певний баланс між активацією та дезактивацією Оксигену, тому кількість його активних форм залишається на безпечному рівні, однак ушкодження рослинних тканин під дією стресових чинників зазвичай призводить до активації Оксигену, порушується баланс між утворенням і руйнуванням АФО [1]. Значення АФО у процесах ВРПО та механізми АОЗ розкрито у працях Л.В. Хрипача, Ю.А. Рєвазової, Ю.Е. Колупаєва, В.А. Костюка, В.В. Бараненко, Ю.В. Карпець та інших дослідників [2–9]. Загальноприйнятим є твердження, що основною мішенню АФО є клітинні мембрани, ліпіди яких зазнають ферментативного та вільнорадикального переокислення, яке першочергово пошкоджує молекули поліненасичених жирних кислот [7]. Генерація АФО рослинною клітиною відбувається у відповідь на дію екологічних стресорів абіотичного походження [1–3]. У роботах Т. Kawano [8], I. Heiser, E. Elstner [9], С.Н. Foyer, G. Noctor [10] відзначено посилення загальної продукції АФО рослинами при вторгненні патогенів (бактерій, грибів,

мікоплазми) й описані механізми реакції надчутливості. О.П. Дмитрієв і Ж.М. Кравчук говорять про значення АФО у формуванні набутої системної стійкості рослин до патогенів як сигнальних інтермедіатів активації генів ферментів, що беруть участь у синтезі АО та фітоалексинів [11]. На сучасному етапі розробкою проблеми АФО та АОЗ рослинних організмів займається британська школа біохімії, яку очолює Dr Nicholas Smirnoff [7]. Згідно з роботами О.Г. Полєскої найбільше значення для рослинної клітини має синглетний кисень, супероксиданіонрадикал, гідроген пероксид і гідроксил радикал [12]. Загалом питання про значення АФО та АО в рослинній клітині не є однозначними та вичерпними і потребують ретельного дослідження і систематизації.

**Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття.** Недослідженими є зв'язок стійкості рослин і їх адаптації до умов існування у плані зміни величин показників ПАС; роль окремих компонентів ПАС у забезпеченні стійкості рослин до хвороб, біохімічних і молекулярних механізмів цієї стійкості.

**Новизна.** У роботі вперше здійснено комплексний аналіз компонентів прооксидантної та антиоксидантної ланки тканин зернівок *Hordeum vulgare* L. Визначено рівень і джерела генерації супероксиданіонрадикалу, виявлено зв'язок між рівнем стійкості до хвороб різних сортів *Hordeum vulgare* L. і значеннями показників ПАС, обґрунтовано роль окремих ланок ПАС у захисті рослин від патогенів.

**Методологічне або загальнонаукове значення.** На основі проведених досліджень експериментально виявлено найбільш значущі показники стану ПАС, які можуть бути використані для встановлення стійкості рослин до хвороб. Обґрунтовано можливість розширення посівних площ ячменю сорту «Созонівський» в агрокліматичних умовах Кіровоградської області. На основі результатів дослідження здійснено розширення посівів ячменю сорту «Созонівський» як високостійких до хвороб (рішення науково-технічної ради Кіровоградського інституту АПВ НААНУ).

Результати, отримані в роботі, використовуються в наукових дослідженнях кафедри біології та методики її викладання та в навчальному процесі природничо-географічного факультету Центральноукраїнського державного педагогічного університету імені Володимира Винниченка під час викладання курсів «Фізіологія рослин», «Біохімія», «Екологія».

**Виклад основного матеріалу.** Кількісний аналіз компонентів стану ПАС тканин ячменю здійснювали на зернівках рослин таких сортів: «Созонівський» (високостійкий сорт – 9 клас стійкості), «Вакула» (СС – середньостійкий сорт – 7 клас стійкості) та «СН-28» (малостійкий сорт – 5 клас стійкості). Кожна дослідна група включала 10 проб.

**Методи дослідження.** Визначення біохімічних показників здійснювали згідно із загальноприйня-

тими методиками: концентрацію  $\bullet\text{O}_2^-$  (нмоль $\bullet\text{O}_2^-/\text{г}\cdot\text{с}$ ) досліджували спектрофотометричним НСТ-тестом [13], концентрацію МДА (мкмоль/кг) визначали за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою у кислому середовищі, активність СОД (ОД активності) визначали кінетично за швидкістю 50%-го інгібування аутоокиснення адреналіну, активність каталази (мкмоль/г $\cdot\text{хв}$ ) – методом О.М. Баха та С.М. Зубкової, активність GSH-пероксидази (ОД активності) – реактивом Елмана, концентрацію АК (ммоль/кг) – титруванням за Тільмансом, концентрацію GSH (ммоль/кг) – за допомогою реактиву Елмана, активність цитохромоксидази (ОД активності, індофенольна одиниця за хв. на г тканини) – за методом W. Straus [14].

**Результати дослідження** значення показників стану ПАС тканин зернівок ячменю наведені в табл. 1.

Спектрофотометрично визначений фоновий рівень  $\bullet\text{O}_2^-$  виявився найвищим у тканинах зернівок ячменю сорту «СН-28», що достовірно переважає показник «Вакули» в 1,40 рази ( $p_{2,3} < 0,05$ ) та показник «Созонівського» в 2,12 рази ( $p_{1,3} < 0,05$ ).

Стимуляція дріжджами призвела до зростання рівня  $\bullet\text{O}_2^-$  на 309,23%, 32,97% та 104,20% відповідно до порядку сортів «Созонівський», «Вакула» та «СН-28», а стимуляція NaF – на 676,92%, 50,55% і 5,79%. Таким чином, отримано співвідношення міжсортного порівняння показників рівня  $\bullet\text{O}_2^-$  після стимуляції тканин розчином NaF – 3,69 : 1 : 1,01 ( $p_{1,2,3} < 0,05$ ). Стимуляція дріжджами призвела до зміни встановленого співвідношення – 2,20 : 1 : 2,79 ( $p_{1,2,3} < 0,05$ ) відповідно до вищеперахованого порядку сортів.

Встановлена перевага фонового та стимульованого рівня МДА в зернівках ячменю сорту «СН-28»

в 1,44, та 1,04 рази порівняно із сортом «Вакула» ( $p_{2,3} < 0,05$ ), та в 2,53 і 1,5 рази порівняно із сортом «Созонівський» ( $p_{1,3} < 0,05$ ).

Достовірна різниця вмісту МДА<sub>0</sub>, та МДА<sub>1,5</sub> сорту «Вакула» та «Созонівський» склала 1,76 та 1,44 рази ( $p_{1,2} < 0,05$ ). Таким чином, міжсортне порівняння показника  $\Delta$  МДА можна представити у вигляді такого співвідношення – 2,84 : 1,94 : 1 ( $p_{1,3} < 0,05$ ,  $p_{2,3} < 0,05$ ).

Результати визначення неферментних АО свідчать, що вміст АК в зернівках ячменю змінюється закономірно до зміни рівня стійкості сорту рослин до хвороб.

Так, вміст АК високостійкого сорту «Созонівський» в 1,09 рази вищий порівняно з «Вакулою» ( $p_{1,2} < 0,05$ ) та в 2,02 рази порівняно з «СН-28» ( $p_{1,3} < 0,05$ ). Різниця міжсортного порівняння показників «Вакули» та «СН-28» склала 1,85 рази ( $p_{2,3} < 0,05$ ). Порівняння концентрації GSH можна звести до такого відношення: 1,05 : 1 : 0,87 ( $p_{2,3} < 0,05$ ,  $p_{1,3} < 0,05$ ) відповідно до сортів «Созонівський», «Вакула» та «СН-28».

Результатом проведених досліджень стало виявлення зв'язку між рівнем стійкості сорту ячменю до хвороб та активністю ферментів АОЗ. Так, активність каталази в зернівках ячменю сорту «Созонівський» вища, ніж у «Вакули», в 1,22 рази ( $p_{1,2} < 0,05$ ). Активність каталази в зернівках сорту «СН-28» зменшується в 1,47 рази ( $p_{1,3} < 0,05$ ) порівняно із сортом «Созонівський» та в 1,21 рази порівняно з «Вакулою» ( $p_{2,3} < 0,05$ ).

Біохімічний аналіз показав перевагу активності СОД зернівок ячменю сорту «Созонівський» над показником «СН-28» та «Вакули» у 1,65 та 1,34 рази відповідно ( $p_{1,2} < 0,05$ ). Активність СОД зменшується

Таблиця 1

**Порівняння показників стану компонентів ПАС зернівок ячменю різних сортів за рівнем стійкості до хвороб**

№	Показники стану ПАС	Сорти рослин		
		«Созонівський»	«Вакула»	«СН-28»
1	НСТ тест (фоновий рівень), нмоль $\bullet\text{O}_2^-/\text{г}\cdot\text{с}$	0,065 ± 0,021*	0,091±0,009**	0,138±0,012***
2	НСТ тест (стимуляція дріжджами), нмоль $\bullet\text{O}_2^-/\text{г}\cdot\text{с}$	0,266 ± 0,048*	0,121±0,042**	0,337±0,053***
3	НСТ тест (стимуляція NaF), нмоль $\bullet\text{O}_2^-/\text{г}\cdot\text{с}$	0,505 ± 0,077*	0,137±0,008**	0,146±0,008***
4	МДА <sub>0</sub> , мкмоль/кг	10,03 ± 0,65*	17,67±0,68**	25,39±1,11***
5	МДА <sub>1,5</sub> , мкмоль/кг	27,69 ± 1,12*	39,79±2,73**	41,52±0,45***
6	$\Delta$ МДА, %	187,61 ± 24,50	128,45 ± 18,35**	66,10 ± 6,89***
7	Аскорбінат, ммоль/кг	0,083 ± 0,01*	0,076±0,01**	0,041±0,004***
8	GSH, ммоль/кг	50,65 ± 0,68	48,05 ± 0,1**	42,00±0,53***
9	Каталаза, мкмоль/г $\cdot\text{хв}$	0,28 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,19 ± 0,01***
10	СОД, ОД	0,39 ± 0,02*	0,29 ± 0,01**	0,23 ± 0,01***
11	GSH-пероксидаза, ОД	5,09 ± 0,05*	4,53 ± 0,09**	3,78 ± 0,02***
12	Цитохромоксидаза, ОД	0,346 ± 0,006*	0,276±0,005**	0,268±0,009***

Примітки: \* –  $p_{1,2} < 0,05$  при порівнянні значень показників сорту «Созонівський» і «Вакула»; \*\* –  $p_{2,3} < 0,05$  при порівнянні значень показників сорту «Вакула» і «СН-28»; \*\*\* –  $p_{1,3} < 0,05$  при порівнянні значень показників сорту «СН-28» і «Созонівський».

в 1,24 при переході від сорту «Вакула» до «СН-28» ( $p_{2,3} < 0,05$ ).

Встановлено збільшення активності GSH-пероксидази при переході від малостійкого до хвороб сорту «СН-28» до «Вакули» та «Созонівського» у 1,12 та 1,35 рази відповідно ( $p_{2,3} < 0,05$ ,  $p_{1,3} < 0,05$ ). Активність цитохромоксидази у тканинах сорту «Созонівський» є в 1,29 рази вищою порівняно із сортом «СН-28» ( $p_{1,3} < 0,05$ ) та в 1,25 рази порівняно із «Вакулою» ( $p_{1,3} < 0,05$ ).

Отже, завдяки проведеному біохімічному аналізу зернівок ячменю виявлено закономірність, за якою значення більшості досліджуваних показників стану ПАС зростають зі збільшенням стійкості сорту до хвороб.

**Головні висновки:** 1) Стійкість сорту до хвороб залежить від таких показників стану прооксидантно-антиоксидантної системи рослин: рівня генерації  $\bullet\text{O}_2^-$ , вмісту малонового діальдегіду, аскорбінової

кислоти, глутатіону, активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, цитохромоксидази.

2) Тканини зернівок *Hordeum vulgare* L. характеризуються посиленням обох ланок прооксидантно-антиоксидантної системи відповідно до підвищення рівня стійкості сорту до хвороб із незначним переважанням прооксидантної активності.

**Перспективи використання результатів дослідження.** Зміна величин показників ПАС супроводжує всі фізіологічні та патологічні процеси, тому є об'єктом дослідження клінічної медицини, геронтології та привертає увагу вчених до проблеми ПАС. Перспектива використання і модифікації окремих компонентів АОЗ для підвищення захисних сил організму відкриває нове коло досліджень у галузі імунології. Створення сортів посиленої стійкості та підвищеного вмісту антиоксидантів є перспективним напрямом селекції, біотехнології та генної інженерії.

### Література

1. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Plant Biol.* 2004. Vol. 55. P. 373–399.
2. Хрипач Л.В., Рєвазова Ю.А. Роль свободнорадикального окислення в повреждении генома факторами окружающей среды. *Вестник РАМН.* 2004. № 3. С. 16–18.
3. Колупаєв Ю.Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія : Біологія.* 2007. Вип. 3 (12). С. 6–26.
4. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск : БГУ, 2004. 179 с.
5. Колупаєв Ю.Є., Карпець Ю.В. Активність супероксиддисмутази і каталази у колеоптилях пшениці за дії перексиду водню і нагрівання. *Физиология и биохимия культ. растений.* 2007. Т. 39. № 4. С. 319–325.
6. Бараненко В.В. Супероксиддисмутаза в клетках растений. *Цитология.* 2006. Т. 48. № 6. С. 465–474.
7. Smirnoff N. Antioxidants and reactive oxygen species in plants. New York : Blackwell Publishing, 2005. 302 p.
8. Kawano T. Roles of the reactive oxygen species generating peroxides reaction in plant defense and growth induction. *Plant Cell. Repts.* 2003. Vol. 21. № 9. P. 829–837.
9. Heiser I., Elstner E. Biochemical mechanisms of plant defense a central role for reactive oxygen species. *Plant Prot. Sci.* 2002. Vol. 38, Spec Issue 1. P. 76–86.
10. Foyer C.H., Noctor G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a reevaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Enviroment.* 2005. Vol. 28. P. 1056–1071.
11. Дмитрієв О.П., Кравчук Ж.М. Активні форми кисню та імунітет рослин. *Цитология и генетика.* 2005. № 39 (4). С. 64–75.
12. Полєсская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. Москва : КДУ, 2007. 140 с.
13. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом. *Актуальні проблеми сучасної медицини.* Вип.1. 2002. Т. 2. С. 96–97.
14. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині / під ред. І.П. Кайдашева, О.В. Катрушова, В.М. Соколенко, О.І. Цебржинського. Полтава, 1996. 271 с.