

УДК 581.1.03+631.531.173

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, О. В. Єліна, Є. А. Уланова

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ВПЛИВ ЛОКАЛЬНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ НА БІОЕЛЕКТРИЧНУ АКТИВНІСТЬ ЛИСТЯ КУКУРУДЗИ

Охарактеризовано закономірності дії різних доз рентгенівського опромінення на викликані холодовими стимулами біопотенціали листя кукурудзи. Проаналізовано динаміку амплітуди компонентів вказаних потенціалів після опромінення. Кількісно оцінено рівні потенціалів стабілізації для трьох доз опромінення. Встановлено залежність часу поновлення електричних властивостей опроміненних областей від експозиційної дози. При експозиційних дозах більше 0,2 Гр електрогенез клітин опроміненої частини листа повністю не поновлюється.

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, Е. В. Елина, Е. А. Уланова

Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ВЛИЯНИЕ ЛОКАЛЬНОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ

Охарактеризованы закономерности действия различных доз рентгеновского облучения на вызванные холодовыми стимулами биопотенциалы листьев кукурузы. Проанализирована динамика амплитуды компонентов указанных потенциалов после облучения. Количественно оценены уровни потенциалов стабилизации для трех доз облучения. Установлена зависимость времени восстановления электрических свойств облученной области от величины экспозиционной дозы. Выявлено, что при экспозиционных дозах свыше 0,2 Гр электрогенез клеток в облученных областях листьев полностью не восстанавливается.

M. P. Motsnyj, N. P. Botsva, O. V. Elina, Y. A. Ulanova

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University

EFFECT OF LOCAL X-RAY IRRADIATION ON MAIZE LEAVES' BIOELECTRICAL RESPONSE

Dynamics of maize leaves biopotentials evoked by X-rays stimuli is analysed. Qualitative similarity in dynamics of plant's bioelectrical response is determined. Hyperpolarization levels are quantitatively estimated for every series of the experiment. Dependence of the summarized hyperpolarization levels on photo-stimulus wave length is detected. The fact is ascertained that mean amplitude of hyperpolarization potentials reduces from 57.7 to 27.7 mV when the wave length decreases. Probable mechanisms of the initiation of photostimulated bioelectrical response are analysed.

Вступ

Із часів відкриття явища радіоактивності дослідження взаємодії іонізуючих випромінювань з речовиною не втратили своєї актуальності [2; 3; 8; 11]. Найбільший інтерес викликають ефекти, пов'язані зі впливом указаних випромінювань на живі організми [5; 6; 11], при цьому актуальність вивчення впливу на живі системи рент-

генівського випромінювання визначається розширенням сфери застосування рентгенодіагностики у медицині та рентгеноструктурного аналізу в техніці. Дослідженням впливів іонізуючого випромінювання на функціональний стан вищих рослин у наш час присвячена значна кількість праць [2; 3; 14]. У більшості з них (особливо після аварії на Чорнобильській АЕС) вивчається вплив різних доз іонізуючого випромінювання або на генетичний апарат рослин, або на меристемні системи. При цьому питання впливу різних доз випромінювання на електрогенну функцію вищих рослин практично не вивчені. Мета цієї роботи – оцінити вплив локального рентгенівського опромінення на біоелектричну активність листя кукурудзи.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на паростках кукурудзи сорту Кадр-265. Попередньо відібране здорове насіння пророщували протягом 20–25 діб, після чого паростки, у яких на цей час було від трьох до п'яти листків, розподіляли на чотири групи: 1 – норма – рослини, які не опромінювали; 2, 3, 4 – рослини, які опромінювали експозиційними дозами 0,2, 0,3 і 0,4 Гр відповідно. Такі дози для рослин вважаються малими [2; 3].

Для опромінення застосовували стандартний дифрактометр серії ДРОН із напругою на трубці 25 кВ, вихідним струмом 20 мА та середньою довжиною хвилі $\lambda_{сер} = 1,7902 \text{ \AA}$. Під час опромінення листок рослини закріплювали на об'єктиві пристрою. На верхній листка робили позначку маркером для означення зони опромінення. Потужність дози вимірювали дозиметром ДП-451, який пройшов метрологічний контроль.

Для зменшення впливів зовнішніх електромагнітних полів паростки під час експериментів розміщували в екранованій камері. Електричну активність листя реєстрували за допомогою електродів, що не поляризуються. Сигнал з електродів подавали на підсилювач постійного струму з регульованим коефіцієнтом підсилення (1–10), а потім на самописець Endim. При вимірюванні амплітуди сигналів, що відводили від листя рослин, застосовували сигнал калібрування синусоїдальної форми частотою 1 Гц, який подавали на вхід підсилювача.

Електричні потенціали викликали холодowymi стимулами, які наносили на листя під відвідним електродом за допомогою спеціального термостимулятора. Параметри подразнювального стимулу вимірювали термопарою. Тривалість подразнення задавали за допомогою реле часу в межах 5–7 с. Температуру термостимулятора регулювали величиною струму, який проходив крізь нього та вимірювався амперметром [4; 5].

Результати та їх обговорення

У першій групі дослідів опромінені рентгенівськими променями з експозиційною дозою 0,4 Гр паросток одразу розміщували в екранованій камері. Електроди наклали на опромінену ділянку листка. На листок наносили холодний термостимул тривалістю 5 с із максимальною температурою охолодження $\Delta t = -7 \text{ }^\circ\text{C}$ і швидкістю охолодження $v = 1,4 \text{ }^\circ\text{C/s}$. Інтервал між імпульсами складав 15 хв. Результати одного з типових дослідів такої серії наведено на рисунку 1. Після опромінення параметри біопотенціалів значно змінюються: одразу після опромінення (рис. 1) загальна тривалість негативної фази (*N*-фази) складає лише близько 20 с (при нормі 40–45 с, рис. 4), а її амплітуда –35 мВ. Важливою ознакою потенціалу, що спостерігається, є наявність позитивної фази (*P*-фази), яка практично відсутня у нормі (рис. 3а). Подальша термостимуляція з інтервалом 15 хв веде до зростання амплітуди як *N*-, так і *P*-фази

реєстрованого потенціалу. При цьому тривалість потенціалів практично не змінюється (20–25 с, що значно менше норми).

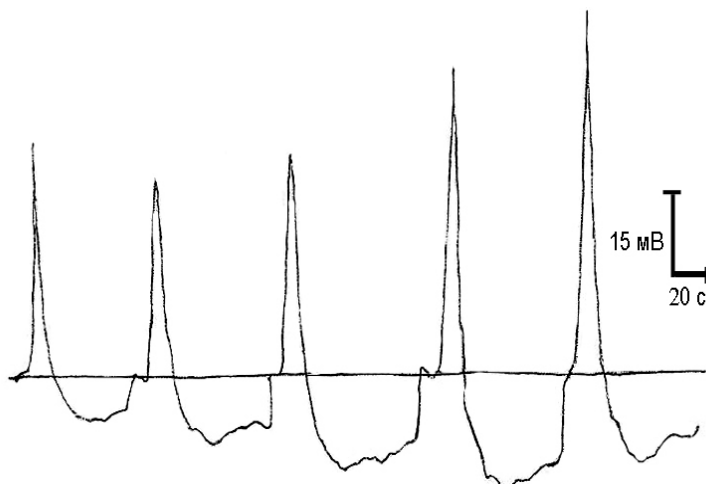


Рис. 1. Потенціали листка кукурудзи, викликані холодним стимулом $\Delta t = -7^\circ\text{C}$, $v = 1,4^\circ\text{C}/\text{с}$ після локального опромінення рентгенівськими променями експозиційною дозою 0,4 Гр (реєстрації з інтервалом 15 хв після опромінення)

За результатами дослідів указаної серії побудовано графіки залежності максимальної амплітуди *N*- та *P*-фаз від часу після опромінення (рис. 2). Амплітуда *N*-фази потенціалу збільшується з 27 мВ на 15-й хвилині після опромінення до 60 мВ на 75-й хвилині. Амплітуда *P*-фази зростає з 7 до 28 мВ протягом 15–60 хв.

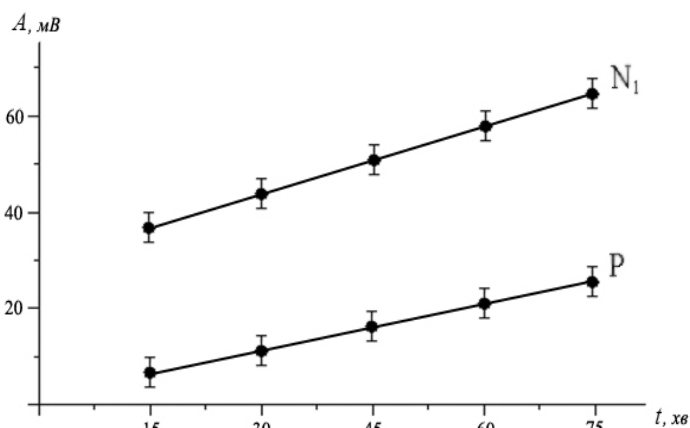


Рис. 2. Залежність максимальної амплітуди (*A*) *N*- та *P*-фаз біопотенціалу від часу (*t*) після опромінення

Наступну реєстрацію біопотенціалів проводили через добу після опромінення (рис. 3). Через добу практично зникає *P*-фаза, із 20 до 40 с збільшується тривалість *N*-фази, а її амплітуда зменшується до 37 мВ, у той час як до опромінення потенціал має амплітуду близько 85 мВ і тривалість 50 с.

У наступній серії дослідів вивчали вплив локального рентгенівського опромінення на динаміку біопотенціалів листя кукурудзи при ритмічній холодовій стимуляції. Спочатку зареєстровано «норму»: динаміку потенціалів без опромінення, яка виявилась подібною при ритмічній стимуляції двома частотами 0,05 (рис. 4) та 0,025 Гц.

При частотній стимуляції амплітуда спочатку зменшується (протягом 0–50 с після першого стимулу), а потім стабілізується на певному, залежному від частоти рівні [5]. У нашому випадку для частот 0,050 і 0,025 Гц цей рівень становить відповідно 32 та 50 % амплітуди першого стимулу серії. У подальших експериментах ці рівні були критеріями оцінки впливу на електрогенез листя рентгеновського опромінення дозами 0,2, 0,3 та 0,4 Гр. Узагальнені результати таких експериментів при спостереженнях протягом 9 діб після опромінення наведено у таблиці.

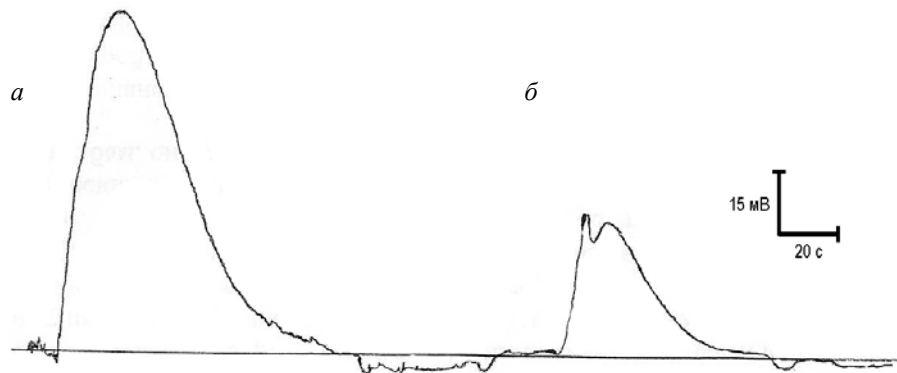


Рис. 3. Потенціали листка кукурудзи, викликані холодним стимулом $\Delta t = -7^\circ\text{C}$, $v = 1,4^\circ\text{C}/\text{c}$ після локального рентгеновського опромінення експозиційною дозою 0,4 Гр до (а) та через добу (б) після опромінення

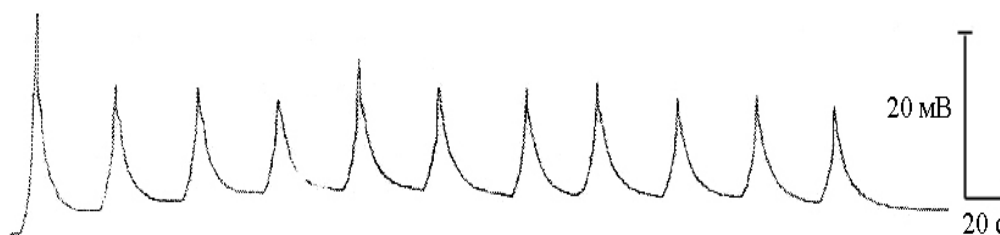


Рис. 4. Біопотенціали рослини («норма») без опромінення при стимуляції холодними стимулами $\Delta t = -7^\circ\text{C}$, $v = 1,4^\circ\text{C}/\text{c}$ із частотою 0,05 Гц

Результати експериментів свідчать, що при всіх експозиційних дозах рівень стабілізації після опромінення для двох частот стимуляції значно менший норми та з часом знижується. Середня амплітуда потенціалу також зменшується з часом.

Рентгеновське опромінення листка кукурудзи дозою 0,4 Гр спричинює помітні зміни основних характеристик біопотенціалів, викликаних холодовою стимуляцією. По-перше, після опромінення значно скорочується загальна тривалість *N*-фази потенціалу (з 45–50 до 20–25 с). Оскільки зареєстровані потенціали є сумарними потенціалами дії, то таке скорочення може бути пов'язане зі зниженням порогу збудливості клітин, що, у свою чергу, поліпшує синхронізацію відповідей і, як наслідок, зменшує їх тривалість [6; 7; 9; 13].

Збільшення амплітуди потенціалів після опромінення може бути спричинене як зниженням порогу, так і підвищенням рівня поляризації клітинних мембран. Така поляризація може виникати через вплив опромінення на АТФ-залежну компоненту мембранного потенціалу, яка збільшується при появі у клітинах вільних радикалів [11–14]. Про це свідчить той факт, що опромінення викликає появу значної позитивної *P*-фази, яка

слідє за *N*-фазою та є проявом слідової гіперполяризації мембран клітин, котрі беруть участь у формуванні сумарного потенціалу. Така гіперполяризація може виникати за рахунок збільшення активного транспорту іонів крізь мембрану як компенсація при порушенні її селективних властивостей.

Необхідно також відзначити, що через добу після опромінення тривалість потенціалу практично поновлюється (рис. 3б), але його амплітуда майже завжди залишається меншою, ніж амплітуда потенціалу неопроміненої рослини. Амплітуда сигналу поступово зменшується з часом, який минув із моменту опромінення. Причому чим більшу дозу отримала рослина, тим значнішим є зменшення амплітуди потенціалу. Можна припустити, що опромінення листя рентгенівськими променями викликає зменшення сумарної поляризації мембран, можливо, через їх пошкодження.

Таблиця

Динаміка параметрів електричної активності листя при різних дозах опромінення

Доба після опромінення	Рівень стабілізації потенціалу (% від амплітуди першої відповіді) для двох частот холодової стимуляції						Середнє значення потенціалу, мВ		
	0,025 Гц			0,050 Гц					
	0,2 Гр	0,3 Гр	0,4 Гр	0,2 Гр	0,3 Гр	0,4 Гр	0,2 Гр	0,3 Гр	0,4 Гр
1	42	40	35	38	30	40	18	13	8
2	35	32	16	20	30	25	12	9	6
4	35	35	17	25	20	10	8	7	3
7	43	22	12	20	15	5	6	4	2
9	50	25	10	20	15	5	5	3	1

Аналіз динаміки рівнів стабілізації (див. табл.) показав, що дія обраних доз рентгенівського опромінення значно зменшує рівні стабілізації, що, імовірно, пов'язано з послабленням поновлюваних функцій опромінених клітин. Важливим є той факт, що при малих дозах опромінення (0,2 Гр) на дев'ятій добі рівень електричної активності листя практично повертається до норми, у той час як при більших дозах (0,3 і 0,4 Гр) цей рівень залишається дещо нижчим за норму.

Висновки

Опромінювання листя кукурудзи рентгенівськими променями довжиною хвилі $\lambda_{сер} = 1,7902 \text{ \AA}$ дозою 0,4 Гр спричинює значні зміни параметрів біопотенціалів, викликаних холодовим подразненням. Протягом двох годин після опромінення помітно скорочується тривалість потенціалів, збільшується амплітуда та з'являється позитивна *P*-фаза. За добу тривалість потенціалів повертається до норми, але амплітуда завжди залишається меншою, ніж у контрольних неопромінених рослин. Рентгенівське опромінення малими дозами (0,2, 0,3, 0,4 Гр) викликає зниження середньої амплітуди потенціалів із часом протягом 9 діб спостережень. Таке опромінення спричинює також зниження поновлювальних функцій клітин, які генерують біопотенціали. За дози 0,2 Гр вказані функції повертаються до норми на дев'ятій добі, а за 0,3 і 0,4 Гр ефект поновлення не спостерігається. Оскільки початкові значення амплітуд потенціалів із часом не поновлюються, то, імовірно, в окремих клітинах через опромінення виникають необоротні процеси.

Бібліографічні посилання

1. **Воденев В. А.** Обратимое изменение внеклеточного *pH* при генерации потенциала действия у высшего растения *Cucurbita pepo* / В. А. Воденев, В. А. Опритов, С. С. Пятыйгин // Физиол. раст. – 2006. – Т. 53. – С. 538–545.

2. **Гроздинский Д. М.** Радиобиология растений. – К. : Наук. думка, 1989. – 147 с.
3. **Застосування** радіобіологічних методів для дослідження реакцій надчутливості у рослин / Ю. В. Шиліна, О. М. Міхеєв, М. У. Гуща, Д. М. Гроздінський // Доп. НАН України. – 1997. – Т. 11. – С. 175–177.
4. **Исследование** биоэлектрических реакций листьев кукурузы при фотостимуляции / М. П. Моцный, Н. П. Боцьва, Е. В. Елина, Л. Я. Садовская // Новости передовой науки. Матер. междунар. научн.-практ. конф. – 2011. – Т. 20. – С. 23–26.
5. **Моцный М. П.** Исследование биоэлектрической реакции растений, вызванной ритмической стимуляцией / М. П. Моцный, Е. В. Елина, С. В. Власова // Наука і освіта. Матер. VII Міжнар. наук.-практ. конф. – 2004. – Т. 55. – С. 37–38.
6. **Опритов В. А.** Биоэлектрогенез у высших растений / В. А. Опритов, С. С. Пятыйгин, В. Г. Ретивин. – М. : Наука, 1991. – 216 с.
7. **Пятыйгин С. С.** Сопряжение генерации потенциала действия в клетках растений с метаболитом: современное состояние проблемы / С. С. Пятыйгин, В. А. Воденеев, В. А. Опритов // Усп. соврем. биол. – 2005. – Т. 125. – С. 534–542.
8. **Пятыйгин С. С.** Деполяризация плазматической мембраны как универсальная первичная биоэлектрическая реакция растительных клеток на действие различных факторов / С. С. Пятыйгин, В. А. Воденеев, В. А. Опритов // Усп. соврем. биол. – 2006. – Т. 126. – С. 493–502.
9. **Пятыйгин С. С.** Сигнальная роль потенциала действия у высших растений / С. С. Пятыйгин, В. А. Опритов, В. А. Воденеев // Физиол. раст. – 2008. – Т. 55. – С. 312–319.
10. **Смит К. Ю. М.** Биология сенсорных систем. – М. : Бином, 2005. – 583 с.
11. **Тарчевский И. А.** Метаболизм растений при стрессе. – Казань : Наука, 2001. – 448 с.
12. **Тарчевский И. А.** Сигнальные системы клеток растений. – М. : Наука, 2002. – 294 с.
13. **Davies E.** New functions for electrical signals in plants // New Phytol. – 2004. – Vol. 161. – P. 607–610.
14. **Mironova E. A.** Effect of low-intensity infrared and millimeter radiation of higher plants' biopotentials / E. A. Mironova, Y. M. Romanovskii // Crit. Rev. Biomed. Eng. – 2001. – Vol. 29. – P. 430–439.

Надійшла до редколегії 18.07.2012