

С. В. Літвінов*, Л. Г. Льошина, О. В. Булко, К. В. Листван, С. А. Пчеловська

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна

*Відповідальний автор: slitvinov83@gmail.com

**ЗМІНИ ВМІСТУ КАРОТИНОЇДІВ ТА ФЛАВОНОЇДІВ У ЛІКАРСЬКІЙ СИРОВИНІ
НАПЕРСТЯНКИ ПУРПУРОВОЇ, СИНЮХИ БЛАКИТНОЇ ТА ЕРВИ ШЕРСТИСТОЇ,
КУЛЬТИВОВАНИХ В УМОВАХ *IN VITRO*, ЗА ХРОНІЧНОЇ ДІЇ
ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ В МАЛИХ ДОЗАХ**

Хронічне низькодозове γ -опромінення наперстянки пурпурової та ерви шерстистої в культурі *in vitro* призводило до збільшення концентрації каротиноїдів і флавоноїдів у листках на початку пострадіаційного періоду. У подальшому показники вмісту пігментів і флавоноїдів зменшувалися в порівнянні з контролем. У випадку синюхи блакитної такі зміни не спостерігалися. Якісний склад вторинних метаболітів при цьому суттєво не змінювався, проте співвідношення окремих компонентів екстракту варіювало у невеликих межах. *Ri*-трансформанти наперстянки пурпурової демонстрували менші зміни у відповідь на опромінення порівняно з нетрансформованими рослинами. Ми припускаємо, що спостережувані ефекти є проявом адаптивної реакції на окислювальний стрес, викликаний хронічним опроміненням малими дозами радіації.

Ключові слова: хронічне опромінення, малі дози радіації, пігменти, флавоноїди, *Digitalis purpurea*, *Polemonium caeruleum*, *Aerva lanata*.

1. Вступ

Механізми стимулюючого та адаптуючого впливу іонізуючого опромінення на процеси, що відбуваються в живих організмах, були та залишаються у фокусі уваги радіобіологів практично з початку історії радіобіології і по сьогоднішній день [1, 2]. Особливий інтерес викликає можливість використання опромінення рослинних об'єктів з метою підвищення їх біологічної продуктивності [3]. З іншого боку, іонізуюче опромінення виявляє значний негативний вплив на стан рослинної компоненти забруднених радіонуклідами природних ценозів [4]. Спостереження за біохімічними та фізіологічними змінами, індукованими радіацією, дає змогу оцінити здатність рослин реагувати на стресові фактори оточуючого середовища. Якщо польові дослідження, присвячені вивченню цього питання, пов'язані з труднощами організаційного та методологічного характеру, то лабораторні експерименти в контрольованих умовах *in vitro* дозволяють отримати надійні та добре відтворювані результати. Це підтверджують наші дані, отримані при дослідженні наперстянки пурпурової. Зокрема, нами було встановлено, що гостре опромінення наперстянки X-променями в дозах 1 - 5 Гр стимулює накопичення в листках каротиноїдів, хлорофілів *a* і *b*, а у випадку рослин, трансформованих *Ri*-плазмідом *Agrobacterium rhizogenes*, ще й флавоноїдів [5]. Для *Ri*-транс-

формантів також було показано залежність індукції флавоноїдів від фізіологічного стресу, про який робили висновок за зниженням відношення вмісту каротиноїдів до вмісту хлорофілів. У роботі [6] відзначається зменшення ряду морфометричних показників рослин, вирощених із насіння з полігонів, на яких підвищений рівень γ -випромінювання. Також показано, що рослини арабідопсису, вирощені з насіння, хронічно опроміненого γ -квантами, раніше зацвітають, раніше завершують вегетаційний цикл і накопичують меншу суху масу [7]. Однак фізіологічні та біохімічні ефекти малих доз радіації в режимі хронічного опромінення все ще залишаються маловивченим питанням.

Метою нашої роботи було з'ясування впливу низькодозового хронічного опромінення на вміст хлорофілів, каротиноїдів та флавоноїдів у листках фармакологічно цінних лікарських рослин – наперстянки пурпурової (*Digitalis purpurea* L.), синюхи блакитної (*Polemonium caeruleum* L.) та ерви шерстистої (*Aerva lanata* (L.) A. L. Juss. ex Schultes) у культурі *in vitro*.

2. Матеріали і методи

У ході експериментів 4-тижневі рослини *D. purpurea* (наперстянка пурпурова) – інтактні та *Ri*-трансформовані, *P. caeruleum* (синюха блакитна) і *A. lanata* (ерва шерстиста) *in vitro* опромінювали γ -джерелом на основі хлориду ^{137}Cs

© С. В. Літвінов, Л. Г. Льошина, О. В. Булко,
К. В. Листван, С. А. Пчеловська, 2021

(відділ біофізики і радіобіології Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України). Об'єкти опромінювали в асептичній культурі на середовищі Мурасіге - Скуга з половинним вмістом макросолей. Рослини отримали загальну дозу радіації 20 сГр протягом 30 діб, потужність дози 0,28 мГр/год. Дозові навантаження визначено, виходячи з мети роботи як такі, що не перевищують верхню межу інтервалу малих доз за критеріями, прийнятими UNSCEAR і МАГАТЕ [8, 9]. Також попередня оцінка показала, що дози, менші 20 сГр, не виявляють індукуючого впливу на пігментну систему обраних об'єктів. Контролем були рослини, закриті від джерела товстою свинцевою стінкою (потужність дози за свинцевим екраном не відрізнялась від фонові).

Агробактеріальну трансформацію, отримання культури генетично трансформованих коренів «hairt root», регенерацію наперстянки пурпурової і культивування рослин усіх трьох видів здійснювали за методиками, описаними в роботах [5, 10]. Для трансформації використовували штамп *Agrobacterium rhizogenes* ATCC15834.

Умови вирощування рослин: світловий день 16/8 год (освітлення люмінесцентними лампами, ФАР 80 мкмоль/м²с⁻¹), температура 23 ± 2 °С.

Через тиждень після опромінення вимірювали оводненість, вміст хлорофілів *a* і *b*, каротиноїдів і флавоноїдів у листках у мг на 1 г маси сухої речовини. Рослини субкультивували протягом 30 діб, аналізуючи кожен пасаж окремо: 1-й пасааж аналізували через 7 діб після зняття з опромінення, 2-й – через 37 діб, 3-й – через 67 діб.

Досліди проводились у трикратній повторності протягом року.

Пігменти і флавоноїди екстрагували 70 % етанолом із подрібненого та просіяного через сито сухого матеріалу при температурі 24 °С протягом 24 год.

Концентрацію хлорофілів визначали на спектрофлюориметрі Флюорат-02-Панорама (РФ) у фотометричному режимі за довжин хвилі 649 і 665 нм каротиноїдів – за 470 нм. Сумарний вміст флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом з використанням комплексоутворюючої реакції з хлоридом алюмінію за довжини хвилі 415 нм [11]. В якості еталону порівняння використовували комплекс рутину з хлоридом алюмінію.

Якісне визначення вторинних метаболітів рослин проводили за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), яку проводили на рідинному хроматографі Shimadzu HPLC 10Avr (Японія) на колонці Zorbax Eclipse (XDB-C18, 6 × 250 мм, 5 мкм, Agilent), доповненій передколонукою Symmetry C8 Sentry Guard

Cartridge (20 × 3,9 мм, 5 мкм, Waters, США). В якості елюентів використовували ацетонітрил і деіонізовану воду з додаванням 1 % мурашиної кислоти. Умови ВЕРХ: Т = 40 °С; загальна тривалість 48 хв; градієнтна елюція 10 % ацетонітрилу – 60 % ацетонітрилу (43 хв), швидкість потоку 0,8 мл/хв, об'єм вколу 10 мкл. Якісний аналіз отриманих результатів полягав у визначенні наявності/відсутності основних хроматографічних піків у кожному експериментальному варіанті ($\lambda_{36} = 318 - 325$ нм). Для порівняння кількісного вмісту речовин екстрактів різних варіантів було визначено відносні площі піків для всіх основних речовин кожного екстракту (% площі кожного хроматографічного піка від загальної площі піків усіх речовин, які аналізуються і містяться в екстракті), знайдено середні значення цих величин і стандартні похибки.

Обробка та аналіз результатів проведено за програмою Microsoft Excel 2003 пакета Microsoft Office XP («Microsoft», США). Дані трьох повторів досліду усереднювали і розраховували стандартну похибку середнього. Порівняння варіантів проводили за допомогою загальноприйнятих непараметричних статистичних методів.

3. Результати та обговорення

Дані спектрофотометричного аналізу показали, що через тиждень після хронічного опромінення в листках наперстянки підвищився вміст флавоноїдів (табл. 1). Гостре опромінення *D. purpurea* в дозах 1 - 5 Гр також значно підвищило вміст флавоноїдів і каротиноїдів у листках рослин [5]. Майже втричі у порівнянні з неопроміненим контролем зросла концентрація каротиноїдів у тканинах ерви шерстистої. Натомість співвідношення суми хлорофілів до суми каротиноїдів ($C_a + C_b$)/ $C_{кр}$ для листків цієї рослини знизилось з 0,50 до 0,31, що може свідчити про розвиток фізіологічного стресу. Ні у випадку наперстянки пурпурової, ні у випадку синюхи блакитної це співвідношення не перевищило величини неопроміненого контролю. Варто відзначити, що в опромінених рослинах синюхи блакитної, на відміну від ерви та наперстянки, вміст флавоноїдів і каротиноїдів не змінювався у порівнянні з контролем, можливо, унаслідок більшої стійкості рослин даного виду до дії опромінення.

За умов впливу малих доз хронічної радіації (20 сГр) не простежується залежність між фізіологічним стресом і накопиченням флавоноїдів, що має місце при на порядок більших дозах, отриманих у результаті гострого опромі-

Таблиця 1. Маса і вміст хлорофілів, каротиноїдів і флавоноїдів (середнє ± стандартна похибка) у листках *D. purpurea*, *P. saerulleum*, *A. lanata* через тиждень після зняття з хронічного опромінення (пасаж І), К – неопромінені рослини, ХО – хронічно опромінені рослини, *D. purpurea* – нетрансформовані рослини наперстянки пурпурової, *D. purpurea* 15834 – трансформовані рослини наперстянки пурпурової

Об'єкт	Маса сирої речовини, г/рослина	Маса сухої речовини, г/рослина	Вміст води, %	Вміст хлорофілу а, мг/г сухої речовини (Ca)	Вміст хлорофілу b, мг/г сухої речовини (Cb)	Ca/Cb	Вміст каротиноїдів, мг/г сухої речовини (Скр)	Вміст флавоноїдів, мг/г сухої речовини (Сфл)	(Ca + Cb)/Скр
<i>D. purpurea</i> (К)	2,62 ± 0,76	0,15 ± 0,04	94,0 ± 0,6	0,10 ± 0,04	0,24 ± 0,01	0,44 ± 0,16	2,39 ± 1,07	0,53 ± 0,03**	0,18 ± 0,04
<i>D. purpurea</i> (ХО)	1,78 ± 0,55	0,12 ± 0,04	93,0 ± 0,0	0,17 ± 0,07	0,26 ± 0,06	0,61 ± 0,09	3,58 ± 1,17	0,73 ± 0,07**	0,12 ± 0,01
<i>D. purpurea</i> 15834 (К)	0,97 ± 0,47	0,08 ± 0,04	92,0 ± 0,6	0,26 ± 0,10	0,34 ± 0,06	0,71 ± 0,18	5,20 ± 2,00	0,85 ± 0,13	0,15 ± 0,06
<i>D. purpurea</i> 15834 (ХО)	0,91 ± 0,37	0,07 ± 0,03	91,3 ± 0,7	0,32 ± 0,20	0,43 ± 0,17	0,64 ± 0,16	5,83 ± 3,32	0,97 ± 0,32	0,15 ± 0,03
<i>P. saerulleum</i> (К)	0,79 ± 0,08	0,10 ± 0,01	87,9 ± 0,5	0,23 ± 0,03	0,16 ± 0,01	1,38 ± 0,17	3,99 ± 0,51	0,59 ± 0,07	0,10 ± 0,01
<i>P. saerulleum</i> (ХО)	1,08 ± 0,45	0,12 ± 0,04	88,3 ± 0,8	0,24 ± 0,05	0,18 ± 0,03	1,32 ± 0,12	3,95 ± 1,07	0,53 ± 0,05	0,12 ± 0,01
<i>A. lanata</i> (К)	1,25 ± 0,14	0,16 ± 0,01	86,6 ± 1,0	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,01	1,33 ± 0,17	0,23 ± 0,03*	0,33 ± 0,08	0,50 ± 0,04*
<i>A. lanata</i> (ХО)	1,32 ± 0,12	0,18 ± 0,01	85,7 ± 1,5	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,01	1,25 ± 0,10	0,68 ± 0,24*	0,39 ± 0,06	0,31 ± 0,07*

Примітка. Жирним шрифтом виділено статистично значимі відмінності між хронічно опроміненними та неопроміненними рослинами: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$.

Таблиця 2. Маса і вміст хлорофілів, каротиноїдів і флавоноїдів у листках *D. rigiriga* (середнє ± стандартна похибка) у двох послдовних пасажах (І, ІІ), ІІІ). К – неопромінені рослини, ХО – хронічно опромінені рослини, *D. rigiriga* – нетрансформовані рослини наперстянки пурпурової, *D. rigiriga* 15834 – трансформовані рослини наперстянки пурпурової

Об'єкт	Маса сирої речовини, г/рослина	Маса сухої речовини, г/рослина	Вміст води, %	Вміст хлорофілу а, мг/г сухої речовини (Ca)	Вміст хлорофілу b, мг/г сухої речовини (Cb)	Ca/Cb	Вміст каротиноїдів, мг/г сухої речовини (Cкр)	Вміст флавоноїдів, мг/г сухої речовини (Cфл)	(Ca + Cb)/Cкр
<i>D. rigiriga</i> (К), ІІ	3,19 ± 0,42	0,22 ± 0,03	93,0 ± 0,4	0,21 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,82 ± 0,14	5,60 ± 0,62	0,54 ± 0,04	0,09 ± 0,01
<i>D. rigiriga</i> (ХО), ІІ	3,00 ± 0,15	0,20 ± 0,01	93,4 ± 0,4	0,21 ± 0,03	0,26 ± 0,03	0,80 ± 0,02	5,90 ± 1,20	0,55 ± 0,05	0,08 ± 0,01
<i>D. rigiriga</i> 15834 (К), ІІ	3,77 ± 0,97	0,27 ± 0,05	92,1 ± 1,8	0,28 ± 0,06*	0,22 ± 0,03	1,25 ± 0,13*	6,16 ± 1,76	0,53 ± 0,03	0,09 ± 0,01*
<i>D. rigiriga</i> 15834 (ХО), ІІ	2,70 ± 0,40	0,19 ± 0,02	92,7 ± 0,5	0,15 ± 0,02*	0,19 ± 0,03	0,85 ± 0,08*	2,71 ± 0,55	0,46 ± 0,05	0,13 ± 0,01*
<i>D. rigiriga</i> (К), ІІІ	4,84 ± 0,60	0,44 ± 0,02**	90,6 ± 1,5	0,21 ± 0,09	0,33 ± 0,01**	0,66 ± 0,06	5,82 ± 0,38	0,61 ± 0,03**	0,09 ± 0,007
<i>D. rigiriga</i> (ХО), ІІІ	3,07 ± 0,75	0,30 ± 0,01**	88,5 ± 3,4	0,21 ± 0,02	0,24 ± 0,02**	0,88 ± 0,11	4,70 ± 0,24	0,49 ± 0,02**	0,10 ± 0,002
<i>D. rigiriga</i> 15834 (К), ІІІ	2,52 ± 1,06	0,27 ± 0,08	86,6 ± 3,5	0,23 ± 0,04	0,27 ± 0,01	0,85 ± 0,16	5,55 ± 1,32	0,47 ± 0,06	0,10 ± 0,002
<i>D. rigiriga</i> 15834 (ХО), ІІІ	3,54 ± 1,44	0,26 ± 0,04	88,8 ± 4,8	0,21 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,83 ± 0,09	4,87 ± 0,34	0,50 ± 0,03	0,09 ± 0,005

Примітка. Жирним шрифтом виділено статистично значимі відмінності між хронічно опроміненними та неопроміненними рослинами: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$.

нення. Проте це не означає, що опромінені рослини не відчувають на собі негативного впливу іонізуючого опромінення. Так, на момент завершення експерименту (67 діб після опромінення) суха маса наперстянки була майже на 30 % меншою за контрольну величину (табл. 2). Опромінені *Ri*-трансформовані рослини наперстянки характеризувались меншим зниженням біомаси в порівнянні з нетрансформованими рослинами.

Середньотерміновим ефектом навіть невеликої дози радіації при хронічному опроміненні було зменшення розмірів рослини та сповільнення росту кореня, що добре видно на прикладі синюхи блакитної (рис. 1). Середня довжина кореня в опроміненних рослинах становила $4,7 \pm 1,7$ см, у той час як у контрольних – $17,0 \pm 0,4$ см.

У зв'язку з ефектом сповільнення росту опроміненних рослин, який ми спостерігали, виникає питання щодо причин такого явища на клітинному рівні.



Рис. 1. Розміри і морфологія рослин синюхи блакитної, 37 доба після зняття з опромінення: 1 – контроль; 2 – хронічно опромінена рослина.

Було показано, що мітотичний індекс у кореневому апексі корелює зі швидкістю і величиною приросту головного кореня [5]. Виходячи з цього, можна припустити, що при хронічному опроміненні в дозі 20 сГр відбувається зниження мітотичного індексу за рахунок затримки або пригнічення поділу клітин апікальної зони. Однак аналітична цінність мітотичного індексу як показника для порівняння стійкості нетрансформованих рослин і *Ri*-трансформантів до дії іонізуючої радіації обмежена тим, що його величина суттєво варіює від однієї рослини до іншої в неопроміне-

ному контролі. Крім того, мітотичний індекс у конусі наростання кореня після опромінення може відображати різні процеси і не обов'язково характеризує стан рослини як цілісного організму. Тому в подальшому ми не використовували цей показник для характеристики стресуючої дії малих доз радіації.

Одним з наслідків хронічного опромінення було зниження накопичення біомаси у *D. purpurea* (див. табл. 2). Схожі результати отримані на арабідопсисі в роботі [7]. На 67 добу після зняття з опромінення в листках нетрансформованих рослин наперстянки зменшувався вміст хлорофілу *b* та флавоноїдів. Для трансформантів же характерне зниження вмісту хлорофілу *a*, проте раніше – на 37 добу після опромінення. В цілому у початковий та середньотерміновий періоди після хронічного впливу радіації у листках рослин *D. purpurea* та *A. lanata* підвищувався вміст каротиноїдів або флавоноїдів, однак через два місяці різниця з неопроміненим контролем або зникала, або концентрація пігментів і флавоноїдів знижувалась нижче контрольного рівня. Якщо під час першої пересадки фіксували збільшення вмісту суми флавоноїдів у листках опроміненних рослин наперстянки пурпурної на 38 %, то на 37 добу після хронічного опромінення концентрація флавоноїдів у листках не відрізнялась від відповідного показника контролю. Аналогічно через тиждень після опромінення в листках ерви шерстистої майже в 3 рази збільшувалась концентрація каротиноїдів. Для рослин *P. caeruleum* такі зміни не спостерігались. Імовірно, активізація синтезу каротиноїдів, флавоноїдів або інших речовин у відповідь на хронічне опромінення носить видоспецифічний характер.

Отримані дані підтверджують припущення щодо адаптивної ролі модифікацій пігментної системи та обміну вторинних метаболітів у відповідь на вплив рідкоіонізуючого опромінення. У наших експериментах було відзначено позитивну кореляцію між концентрацією хлорофілу і каротиноїдів у тканинах листків усіх трьох досліджуваних нами видів лікарських рослин як опроміненних, так і неопроміненних ($r > 0,7$). Відомо, що каротиноїди виконують важливу роль у фотосистемі II: β -каротин бере участь у циклічному транспорті електронів та здійснює гасіння триплетного хлорофілу *a*, поглинаючи частину його надлишкової енергії з виділенням тепла. Імовірно, окислювальний стрес, викликаний опроміненням, індукує додатковий синтез хлорофілу *a* і β -каротину, що необхідні для репарації пошкоджених активними радикалами реакційних центрів ФС II [12].

Підвищення вмісту каротиноїдів і флавоноїдів у листках рослин *D. purpurea* та *A. lanata* в по-

чатковий період після опромінення поряд зі зменшенням накопичення біомаси можна пояснити біохімічною адаптацією до окислювального стресу, коли нормальний баланс між первинним і вторинним метаболізмом зміщується на користь останнього, що необхідно для синтезу сполук, які мають антиоксидантні властивості [13]. Унаслідок такої біохімічної перебудови підвищується стійкість рослин до впливу несприятливих факторів [14], але такою ж мірою зменшується швидкість накопичення біомаси.

Агробактеріальна трансформація наперстянки пурпурової, імовірно, модифікує регуляцію біосинтезу флавоноїдів і трансформанти по-іншому реагують на окислювальний стрес [15], індукований радіацією. Біохімічна адаптація у відповідь на дію іонізуючого опромінення у таких рослинах не виражена.

Цікаво, що оводненість тканин хронічно опроміненних рослин *D. purpurea*, трансформованих *Agrobacterium rhizogenes*, на відміну від неопроміненних трансформантів, через тиждень після

зняття з опромінення була статистично значущо менша, ніж оводненість тканин інтактних рослин, як контрольних, так і хронічно опроміненних (при цьому контрольний і опромінений варіанти синюхи блакитної та ерви шерстистої демонстрували однакову оводненість). Водночас у всіх трьох паसाжах значимі відмінності по вмісту води між хронічно опроміненними та неопроміненними інтактними рослинами були відсутні. Це свідчить про те, що трансформовані рослини *D. purpurea* в ранній пострадіаційний період реагують на стрес, викликаний опроміненням, не так, як інтактні. При культивуванні *in vitro* вони більш чутливі до хронічного низькодозового γ -випромінювання.

Якісний і кількісний склад вторинних метаболітів було досліджено в етанольних екстрактах рослин за допомогою ВЕРХ (рис. 2). Установлено, що якісний склад досліджуваних сполук усіх трьох видів під впливом опромінення не змінювався. Співвідношення окремих компонентів незначною мірою варіювало.

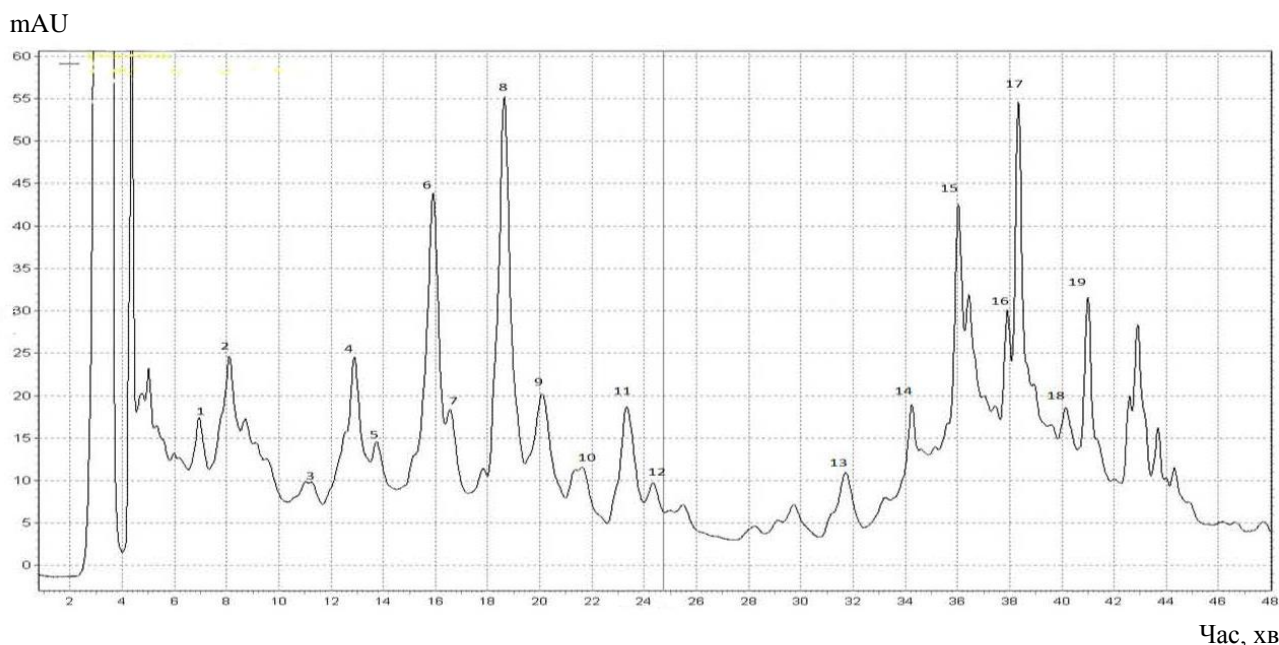


Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма ($\lambda = 323$ нм) етанольного екстракту листків *Digitalis purpurea*.

Так, наприклад, під впливом опромінення відсоток однієї з основних речовин, що входять до складу екстракту наперстянки (пік 8), підвищувався з $13,6 \pm 2,7$ % у контролі до $21,9 \pm 1,3$ % в опроміненних рослинах під час другої пересадки і з $17,0 \pm 3,3$ % до $23,8 \pm 5,8$ % – під час третьої (табл. 3). При цьому у трансформованих рослинах наперстянки такої реакції не спостерігалось.

Значних коливань співвідношення сполук екстрактів синюхи блакитної та ерви шерстистої також не виявлено.

Таким чином, хронічне γ -опромінення при використаних нами дозі та потужності опромінення не справляє суттєвого впливу на якісний склад фенольних сполук та суми флавоноїдів досліджуваних видів рослин.

Таблиця 3. Відносний вміст основних компонентів етанольного екстракту листків інтактних рослин *D. purpurea* (середній % відносно площі досліджуваних піків \pm стандартна похибка)

Номер піка	Час виходу піка, хв	Друга пересадка		Третя пересадка	
		Контрольні рослини	Опромінені рослини	Контрольні рослини	Опромінені рослини
1	7,1	3,7 \pm 0,6	2,6 \pm 0,4	4,9 \pm 1,0	2,7 \pm 1,1
2	8,2	7,6 \pm 2,5	4,6 \pm 1,0	5,7 \pm 0,5	5,0 \pm 1,2
3	11,2	2,6 \pm 0,4	2,7 \pm 0,4	4,0 \pm 0,3	3,4 \pm 0,6
4	12,6	1,1 \pm 1,7	4,2 \pm 0,4	4,0 \pm 0,7	3,6 \pm 1,8
5	13,1	6,2 \pm 1,0	4,0 \pm 0,6	2,6 \pm 0,4	3,2 \pm 2,0
6	16,1	17,5 \pm 5,8	18,1 \pm 2,0	18,0 \pm 3,1	20,9 \pm 4,3
7	16,9	4,5 \pm 1,0	2,8 \pm 1,4	5,5 \pm 0,5	2,9 \pm 1,5
8	18,9	13,6 \pm 2,7	21,9 \pm 1,3	17,0 \pm 3,3	23,8 \pm 5,8
9	20,4	6,2 \pm 0,9	5,1 \pm 0,7	5,4 \pm 1,2	4,1 \pm 1,0
10	21,9	2,8 \pm 0,7	3,5 \pm 0,6	3,5 \pm 0,1	2,4 \pm 0,2
11	23,6	4,9 \pm 0,8	5,4 \pm 0,3	4,4 \pm 0,2	4,3 \pm 0,7
12	24,5	1,7 \pm 0,2	1,9 \pm 0,1	1,5 \pm 0,3	2,6 \pm 0,9
13	32,1	2,6 \pm 0,4	2,5 \pm 0,4	2,4 \pm 0,2	1,9 \pm 0,2
14	34,3	3,5 \pm 0,6	4,3 \pm 0,5	2,5 \pm 0,4	3,1 \pm 0,4
15	36,1	5,0 \pm 0,2	4,0 \pm 0,5	4,9 \pm 0,9	4,8 \pm 1,4
16	37,9	2,8 \pm 0,4	2,4 \pm 0,2	1,9 \pm 0,6	1,9 \pm 0,8
17	38,4	7,1 \pm 1,1	5,7 \pm 0,7	7,3 \pm 1,5	5,1 \pm 1,7
18	40,2	2,6 \pm 0,2	1,7 \pm 0,0	1,6 \pm 0,2	1,7 \pm 0,4
19	41,1	4,0 \pm 0,2	2,3 \pm 0,3	2,7 \pm 0,6	2,8 \pm 0,5

Примітка. Жирним шрифтом виділено статистично значущі відмінності між контрольними та опроміненіми рослинами ($p < 0,05$).

4. Висновки

На даному етапі досліджень показано, що хронічне низькодозове γ -опромінення наперстянки пурпурової та ерви шерстистої в культурі *in vitro* у сумарній поглинутій дозі 20 сГр (потужність дози 0,28 мГр/год) призводить до зміни в тканинах вмісту хлорофілів, каротиноїдів, флавоноїдів. Спостережувані зміни концентрації пігментів та речовин вторинного метаболізму пов'язані з двофазною реакцією рослин на низькодозове іонізуюче опромінення. У першій фазі, що настає в період опромінення і відразу після нього, концентрація каротиноїдів і флавоноїдів збільшувалась. Під час другої фази їхня концентрація зменшувалась

відносно контролю. При цьому для синюхи блакитної такі зміни не спостерігались.

Ефекти, що спостерігались у дослідах, імовірно, є проявом адаптивної реакції рослин на окислювальний стрес, викликаний хронічним опроміненням. Адаптація реалізується завдяки транз'єнтній індукції синтезу захисних сполук – каротиноїдів і флавоноїдів. При цьому відбувається активація біохімічних шляхів вторинного метаболізму одночасно зі зниженням накопичення біомаси та сповільненням росту опромінених рослин. *Ri*-трансформанти *D. purpurea* демонструють відмінні від інтактних рослин зміни у відповідь на опромінення, можливо, їхня адаптивна реакція модулюється *rol*-генами *Agrobacterium rhizogenes*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ / REFERENCES

1. Д.М. Гродзинский. *Адаптивная стратегия физиологических процессов растений* (К.: Наук. думка, 2013) 303 с. / D.M. Grodzinsky. *Adaptive Strategy of Physiological Processes of Plants* (Kyiv: Naukova Dumka, 2013) 303 p. (Rus)
2. А.М. Кузин. *Стимулирующее действие ионизирующего излучения на биологические процессы* (Москва: Атомиздат, 1977) 275 с. / A.M. Kuzin. *Stimulating Effect of Ionizing Radiation on Biological Processes* (Moskva: Atomizdat, 1977) 275 p. (Rus)
3. Д.М. Гродзинский. *Радиобиология растений* (К.: Наук. думка, 1989) 384 с. / D.M. Grodzinsky. *Plant Radiobiology* (Kyiv: Naukova Dumka, 1989) 384 p. (Rus)
4. I. Boubriak et al. Long term effects of Chernobyl contamination on DNA repair function and plant resistance to biotic and abiotic stress factors. *Cytology and Genetics* 50(6) 381.
5. L. Lioshina et al. X-ray effects on stress response of the *Ri*-transformants *in vitro* *Digitalis purpurea* L. *Radiation & Applications* 2(1) 1.
6. Н.М. Рашидов, Н.К. Куцоконь. Мишенные и немишенные радиобиологические реакции – их пороговость и беспороговость. *Проблеми безпе-*

- ки атомних електростанцій і Чорнобиля 3(2) 2005 42. / N.M. Rashidov, N.K. Kutsokon. Target and non-target radiobiological reactions – their threshold and non-threshold effects. *Problemy Bezpeky Atomnykh Elektrostantsiy i Chornobylya (Problems of Nuclear Power Plants' Safety and of Chornobyl)* 3(2) (2005) 42. (Rus)
7. С.В. Литвинов. Влияние хронического облучения семян и проростков *Arabidopsis thaliana* малыми дозами γ -радиации на рост и развитие растений. *Ядерна фізика та енергетика* 15(4) (2014) 406. / S.V. Litvinov. Effects of chronic exposure of seeds and seedlings of *Arabidopsis thaliana* by low doses of γ -radiation on plant growth and development. *Yaderna Fizyka ta Energetyka (Nucl. Phys. At. Energy)* 15(4) (2014) 406. (Rus)
 8. Biological mechanisms of radiation actions at low doses. A white paper to guide the Scientific Committee's future programme of work. (New York: UNSCEAR, 2012) 45 p.
 9. Low doses of ionizing radiation: biological effects and regulatory control. Contributed papers. IAEA-TECDOC-976 (Vienna: IAEA, 1997) 710 p.
 10. L.G. Lioshina, O.V. Bulko. Plant regeneration from hairy roots and calluses of periwinkle *Vinca minor* L. and foxglove purple *Digitalis purpurea* L. *Cytology and Genetics* 48(5) (2014) 302.
 11. M. Butnariu, C.Z. Coradini. Evaluation of Biologically Active Compounds from *Calendula officinalis* Flowers using Spectrophotometry. *Chemistry Central Journal* 6 (2012) 35.
 12. M. Tikkanen et al. Regulation of the photosynthetic apparatus under fluctuating growth light. *Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biological Series* 367 (2012) 3486.
 13. G. Agatia et al. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science* 196 (2012) 67.
 14. A. Fini et al. Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants. *Plant Signaling & Behavior* 6(5) (2011) 709.
 15. V.P. Bulgakov et al. Application of *Agrobacterium Rol* genes in plant biotechnology: a natural phenomenon of secondary metabolism regulation. Genetic Transformation. Maria Alvarez (ed.) (IntechOpen, 2011).

S. V. Litvinov*, L. G. Lioshina, O. V. Bulko, K. V. Lystvan, S. A. Pchelovska

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

*Corresponding author: slitvinov83@gmail.com

**CHANGES IN THE CONTENT OF CAROTENOIDS AND FLAVONOIDS
IN MEDICINAL RAW MATERIAL OF *DIGITALIS PURPUREA*, *POLEMONIUM CAERULEUM*,
AND *AERVA LANATA*, CULTIVATED *IN VITRO*
UNDER THE CHRONIC ACTION OF IONIZING RADIATION**

Chronic low-dose γ -irradiation of *Digitalis purpurea* and *Aerva lanata* plants *in vitro* have led to an increase in the content of carotenoids and flavonoids in the leaves at the beginning of the post-radiation period. In the following, the content of pigments and flavonoids decreased in comparison to the control samples. For *Polemonium caeruleum* such changes had been not observed. The qualitative composition of the secondary metabolites has not been changed, but the ratio of the individual components of the extract varied within a small range. *Ri*-transformants of *Digitalis purpurea* have been shown smaller changes in response to irradiation. We assume that the observed effects are the manifestation of the adaptive response of plants to oxidative stress caused by chronic low-dose irradiation.

Keywords: chronic irradiation, low doses of radiation, pigments, flavonoids, *Digitalis purpurea*, *Polemonium caeruleum*, *Aerva lanata*.

Надійшла/Received 11.11.2020