

## ВПЛИВ ІЗАТІЗОНУ І НАНОСРІБЛА НА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У ВІВСА СОРТУ НЕЗЛАМНИЙ В ПЕРШОМУ ТА ДРУГОМУ ПОКОЛІННЯХ ПІСЛЯ ОБРОБКИ

В умовах техногенного забруднення довкілля та значних змін клімату рослини зазнають дії комплексу стресорів, які значно знижують їх життєздатність, ослаблюють імунітет і разом із фітопатогенами призводять до значного зниження врожайності. Тому однією з найважливіших проблем сьогодення є пошук нових препаратів, здатних поліпшувати адаптаційний потенціал рослин, забезпечуючи таким чином належний рівень їх продуктивності. В цьому зв'язку заслуговують на увагу Ізатізон [1] та наносрібло SS1000 [2]. Ізатізон – препарат із відомою протівірусною, імуномодулюючою та протипухлинною дією, дослідженою на тваринних об'єктах [1]. Попередні дослідження виявили широкий спектр біологічної дії Ізатізону також на рослинах, зокрема його здатність пригнічувати вірусні інфекції та сприяти підвищенню врожайності рослин [3, 4]. Для препаратів наносрібла, яке є добрим антисептиком і набуло широкого застосування в медицині та різноманітних галузях промисловості, притаманний широкий спектр біологічної дії, який залежить як від концентрації, розмірів та форми його часточок, їх поверхневого заряду, сольватації, так і від стану організму та біомолекул, які стають його мішенями [5]. Механізм дії наносрібла пов'язаний із йонами  $Ag^+$ , які вивільняються з часточок наносрібла в тканини і є індукторами оксидативного стресу [5], який, залежно від його рівня, може як стимулювати адаптаційні явища, так і слугувати знаряддям деструктивних процесів. На рослинних об'єктах вплив наносрібла досліджувався як на фізіологічному, так і на молекулярному рівнях [6, 7]. Показана можливість стимулювання росту, розвитку, накопичення біомаси [8]. У попередній нашій роботі [4] повідомлялося про здатність Ізатізону та SS1000 стимулювати ріст і підвищувати врожай зерна у вівса.

Функція фотосинтезу є центральною в житті рослин, від неї залежать ростові, адаптаційні процеси та продуктивність рослин. Важливою характеристикою фотосинтетичного апарата є рівень вмісту фотосинтетичних пігментів та співвідношень між ними. Вплив Ізатізону та SS1000 на фотосинтез вівса раніше не вивчався, тому мета нашого дослідження – вивчити вплив **Ізатізону (Iz)**, його похідного **Ізатітонію (It; Iz+етоній)**, **наносрібла (S)** та **комплексів Iz+S, It+S** на вміст фотосинтетичних пігментів у листках одного з перспективних сортів вівса на початку формування волотей упродовж 2-х поколінь після обробки.

### Матеріали і методи

Ізатізон (діюча речовина – N-метил β-тіосемікарбазон, марборан; розчинники – ДМСО та ПЕГ 400) був розроблений А.І. Потопальським та Л.В. Лозюк [1]; препарат наносрібла SS1000 – в Інституті надтвердих матеріалів ім. М.В. Бакуля [2] і люб'язно наданий нам. Для досліджень обрано високоврожайний, стійкий до вилягання сорт вівса Незламний, отриманий А.І. Потопальським за допомогою екзогенних нуклеїнових кислот згідно з розробленою ним технологією [9]. Водними розчинами препаратів діяли на насіння, рослини вирощували на невеликих ділянках у відкритому ґрунті.

Вміст хлорофілів  $a$  ( $C_a$ ) та  $b$  ( $C_b$ ), сумарний вміст хлорофілів ( $C_{a+b}$ ), каротиноїдів ( $C_{car}$ ) та величини співвідношення  $C_a:C_b$ ,  $C_{a+b}:C_{car}$  визначали в листках одного віку на початку викидання волотей; у кожному з варіантів рівномірно по всій площі ділянок відбирали по 12 рослин, кожне визначення здійснювали в 2–3 повторях. Вміст хлорофілів та каротиноїдів здійснювали спектрофотометричним методом, деталі якого наведені нами раніше [9]. Пігменти виділяли на холді 80 % ацетоном кваліфікації «екстра чистий»

фірми Merck, спектри поглинання їх екстрактів реєстрували за допомогою спектрофотометра BioMate 5 (Thermo Scientific), вміст хлорофілів (мг/г тканини листка) визначали за формулами Вернона, каротиноїдів – Веттштейна [9].

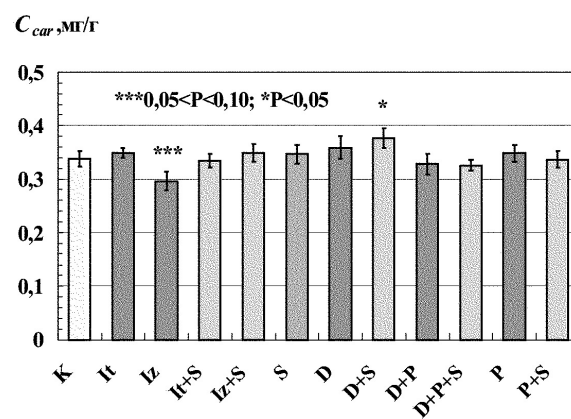
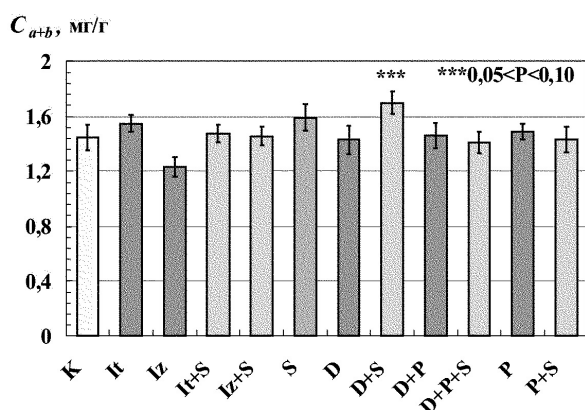
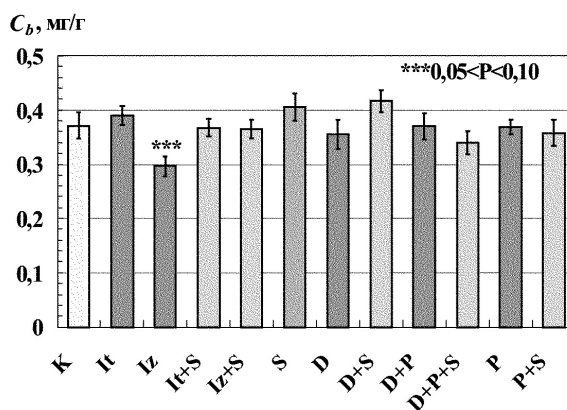
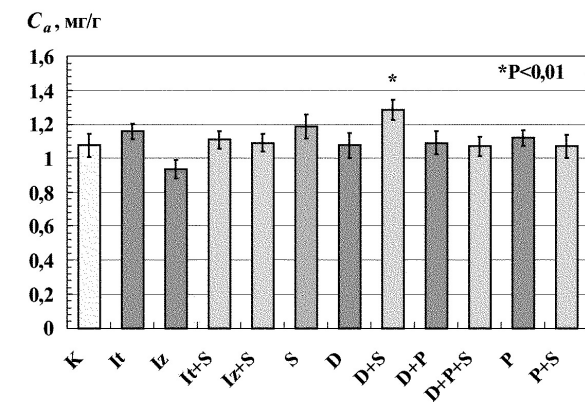
### Результати та обговорення

1. Вплив Ізатізону та наносрібла на вміст хлорофілів та каротиноїдів у листках вівса в першому поколінні після обробки.

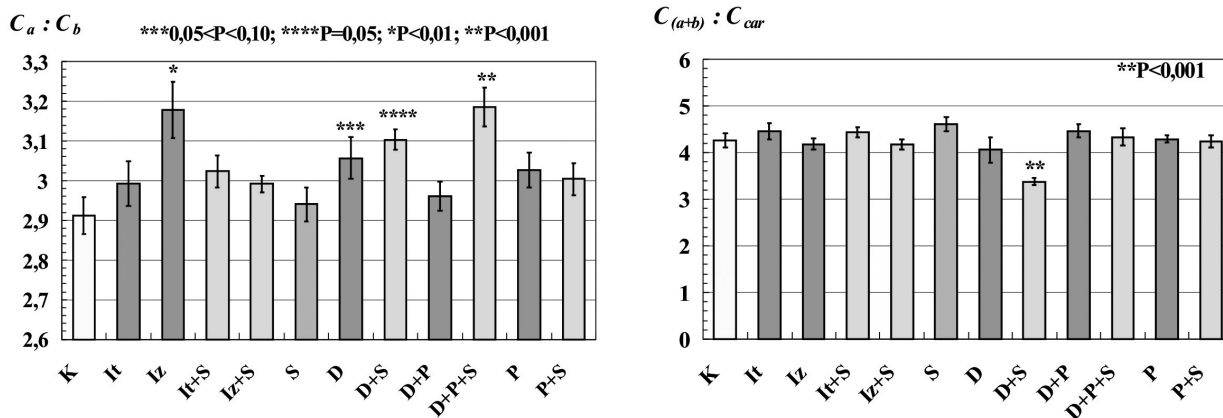
Дослідженнями вмісту пігментів фотосинтезу в листках вівса на початку формування волотей виявлено збільшення  $C_a$  (на 15,9 %;  $P < 0,02$ ) за дії **S+D** (**D** – розчинник ДМСО, що входить до складу **Iz**). Варто зазначити, що хлорофіл *a* є основним компонентом реакційних центрів (РЦ), хлорофіл *b* – світлозбиральних комплексів (СЗК), тому зміни рівня та співвідношень їх вмісту можуть бути свідченням адаптаційних перебудов у фотосистемах, індукованих препаратами.

Збільшення частки хл *a* (величини  $C_a:C_b$ ) в пулі хлорофілів виявлено під час застосування **Iz** (на 9,2 %,  $P < 0,001$ ); **S+D+P** (**P** – ПЕГ 400; на 9,4 %,  $P < 0,01$ ) та комплексу **S+D** (на 6,6 %,  $P = 0,05$ ; рис. 2). За обробки насіння вівса **S+D** спостерігали також збільшення вмісту (на 11,3 %;  $P < 0,05$ ; рис. 1) та частки каротиноїдів у пулі фотосинтетичних пігментів (на 20,7 %;  $P < 0,001$ ; рис. 2).

Отже, в 1-му поколінні для **S+D** виявлено збільшення вмісту хлорофілу *a* на 19,4 % ( $P < 0,01$ ) та каротиноїдів на 11,3 % ( $P < 0,05$ ); для **Iz**, **S+D** та **S+D+P** – збільшення частки хлорофілу *a* на 9,2; 6,6 та 9,4 % ( $P < 0,01$ ;  $P = 0,05$  та  $P < 0,001$ ). Збільшення частки хлорофілу *a* у ході застосування Ізатізону може бути свідченням інтенсивнішого фотосинтезу в таких рослинах і сприяти інтенсифікації ростових процесів та підвищенню врожаю зерна з волоті, про що повідомлялося раніше [4].



**Рис. 1.** Вміст хлорофілів та каротиноїдів у листках вівса Незламний на стадії викидання волотей; 1 покоління після обробок його насіння препаратами Ізатізону, Ізатігонію, розчинниками, що є складниками Ізатізону (ДМСО та ПЕГ 400), наносрібла SS1000 та їх комплексами. По осі x – варіанти досліду; K – контроль, Iz – Ізатізон, It – Ізатігоній, S – наносрібло SS1000, D – ДМСО, P – ПЕГ 400



**Рис. 2.** Співвідношення вмісту хлорофілів *a* та *b* ( $C_a:C_b$ ) та хлорофілів і каротиноїдів ( $C_{a+b}:C_{car}$ ) у листках вівса Незламний на стадії викидання волотей; 1 покоління після обробки його насіння препаратами Ізатізону, Ізатітонію, розчинниками, що є складниками Ізатізону (ДМСО та ПЕГ 400), наносрібла SS1000 та їх комплексами. Розшифрування варіантів досліду – як у підписі до рис. 1

## 2. Вплив Ізатізону та наносрібла на вміст хлорофілів та каротиноїдів у листках вівса в другому поколінні після обробки.

У 2-му поколінні, на відміну від 1-го, виявлено зменшення  $C_a$  у варіантах **D**; **D+P**; **P** та **D+P+S** (на 11,3–15,9 %;  $P<0,05$ ;  $P<0,001$ );  $C_b$  – у варіантах **D**; **D+P**; **D+S**; **P** та **D+P+S** (на 10,6 – 18,0 %;  $P<0,05$ ;  $P<0,01$ ;  $P<0,001$ ) і  $C_{a+b}$  – у варіантах **D**; **D+P**; **P** та **D+P+S** (на 12,2 – 15,1 %;  $P<0,01$ ; рис. 3). Сумарний вміст каротиноїдів у рослин вівса 2-го покоління знижувався у варіантах **P**; **D+P+S** (на 10,0 та 12,5 %;  $P<0,05$ ; рис. 3); в той час як у 1-му поколінні було виявлено тенденцію до зниження  $C_{car}$  за дії **Iz** та достовірне збільшення – за умови застосування **D+S** ( $P<0,001$ ; рис. 1).

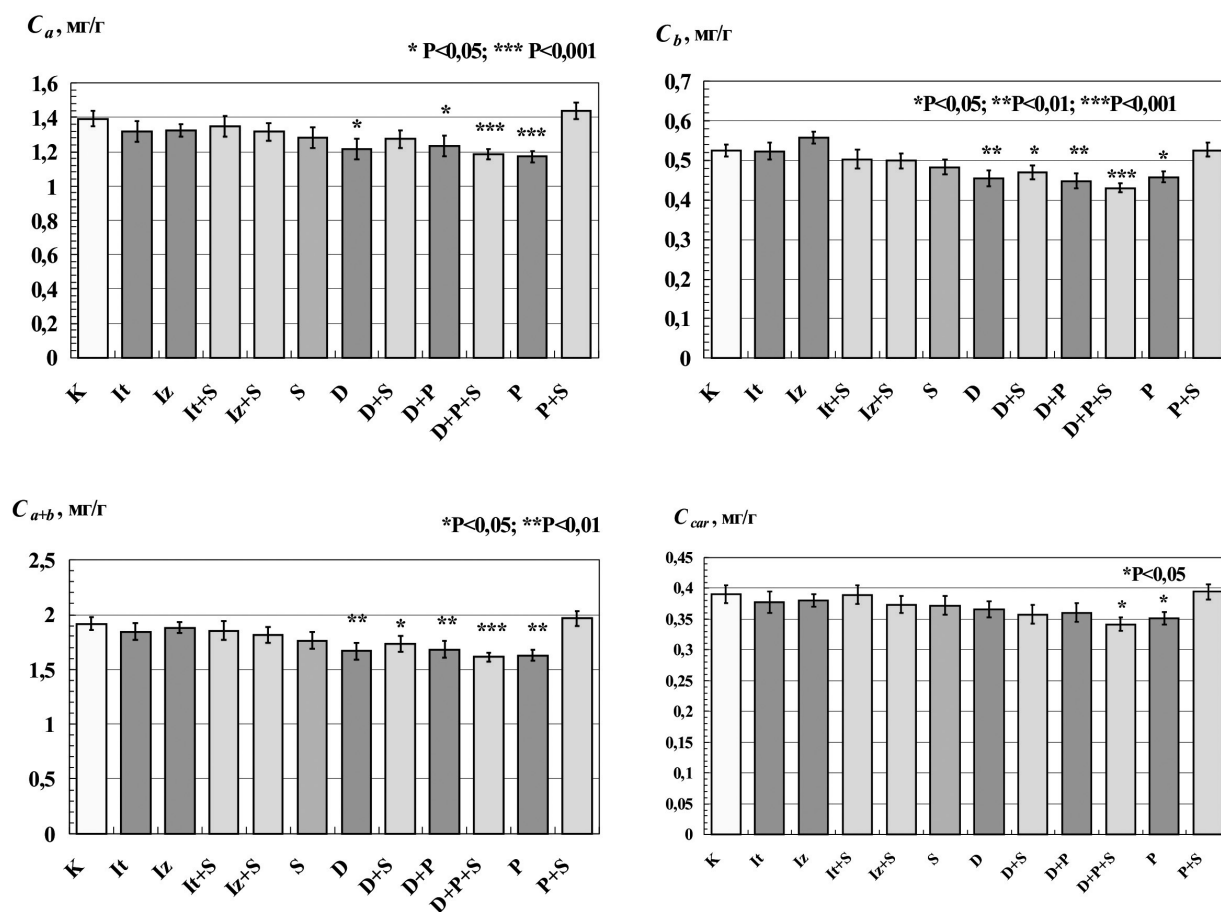
Особливої уваги заслуговують зміни величини  $C_a:C_b$  у рослин 2-го покоління – збільшення частки хл *b* за дії **Iz** (на 10,1 %;  $P<0,001$ ; рис. 4) та **P** (на 3,5 %;  $P<0,05$ ) і збільшення частки хл *a* – у варіантах **D+P**; **P+S**; **D+P+S** (на 3,4–3,9 %;  $P<0,01$ ), на відміну від 1-го покоління, де спостерігали збільшення частки хл *a* у варіантах **Iz**; **D+S**; **D+P+S** та тенденцію до збільшення – за дії **D** (рис. 2). Величина  $C_{a+b} : C_{car}$  у 2-му поколінні вівса варіювала в межах контролю (рис. 4), в той час як у 1-му поколінні збільшувалася частка каротиноїдів у варіанті **D+S** ( $P<0,001$ ; рис. 2).

Загалом у 2-му поколінні, на відміну від 1-го, спостерігали зниження вмісту обох хлорофілів у варіантах, де для обробки насіння було застосовано один із розчинників або їх композицію; за додавання наносрібла до ДМСО та ПЕГ400  $C_a$  не знижувався; також  $C_b$  та  $C_{car}$  – у разі застосування

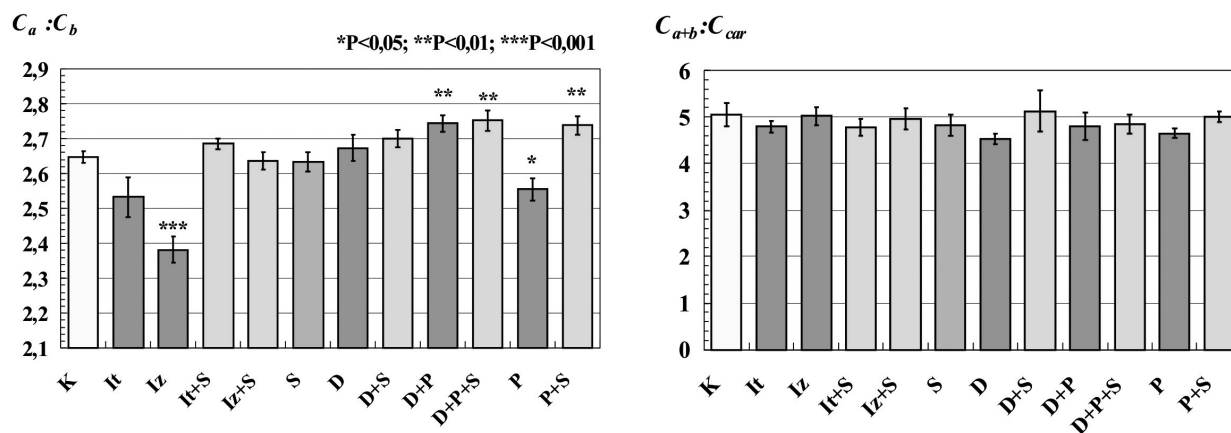
ПЕГ400 разом із наносріблом. Рослинам 2-го покоління, на відміну від 1-го, було притаманне збільшення частки як хл *a*, так і хл *b*.

Здатність впливати на вміст фотосинтетичних пігментів у листках вівса виявилася притаманною Ізатізону і його складникам ДМСО та ПЕГ 400; SS1000 впливало на деякі характеристики пулу пігментів тільки в комплексі із зазначеними розчинниками, для яких також властиво впливати на перебіг клітинних процесів, трансдукцію сигналів від стресорів, ріст, диференціацію, старіння. Зокрема, ПЕГ є індуктором осмотичного стресу та експресії генів, пов'язаних із епігенетичними явищами [10, 11]. Для ДМСО відомий дуже широкий спектр біологічної дії, зумовлений його здатністю взаємодіяти з багатьма біологічно активними молекулами, в тому числі з білками та ліпідами клітинних мембран, впливаючи на передачу сигналів від рецепторів [12].

Отже, досліджені препарати виявили здатність індукувати у вівса як зміни рівня вмісту пігментів, що входять до складу РЦ та СЗК фотосистем, так і зміни частки основних форм хлорофілу в пулі пігментів. Кожному з поколінь був притаманний свій спектр таких відмінностей, що може бути свідченням триваючих адаптаційних перебудов метаболізму під впливом Ізатізону та ДМСО і ПЕГ400, які входять до його складу, також є біологічно активними речовинами [10–12] і в нашому випадку виявляють таку активність на рослинах вівса. Характер змін, які проаналізовано вище та в попередній роботі [4], може зумов-



**Рис. 3.** Вміст хлорофілів та каротиноїдів в листках вівса сорту Незламний на стадії викидання волотей; 2 покоління після обробки препаратами Ізатізону, Ізатітонію, розчинниками, що є складниками Ізатізону (ДМСО та ПЕГ400), наносрібля SS1000 та їх комплексами. Розшифрування варіантів досліді – як у підписі до рис. 1



**Рис. 4.** Співвідношення вмісту хлорофілів *a* та *b* ( $C_a:C_b$ ) та хлорофілів і каротиноїдів ( $C_{a+b}:C_{car}$ ) у листках вівса Незламний на стадії викидання волотей; 2 покоління після обробок його насіння препаратами Ізатізону, Ізатітонію, розчинниками, що є складниками Ізатізону (ДМСО та ПЕГ 400), наносрібля SS1000 та їх комплексами. Розшифрування варіантів досліді – як у підписі до рис. 1

люватися комплексами сигнальних молекул, що є складниками досліджених препаратів, індукторами цілого спектра адаптаційних сигнальних шляхів та можливих взаємодій між ними.

### Висновки

Зміни вмісту фотосинтетичних пігментів у листках вівса на початку викидання волотей (формування врожаю зерна) спостерігали як у першому, так і в другому поколіннях після обробки насіння препаратами Ізатізону та наносрібла SS1000.

У першому поколінні препарат наносрібла SS1000, застосований разом із розчинником ДМСО, виявив здатність спричинювати підвищення вмісту хлорофілу а ( $C_a$ ) на 19,4% ( $P < 0,01$ ) та вмісту каротиноїдів ( $C_{car}$ ) на 11,3% ( $P < 0,05$ ) в листках вівса на початку формування врожаю зерна.

Для Ізатізону та наносрібла SS1000 за використання його разом з ДМСО або з комплексом ДМСО+ПЕГ, який використовується в препараті Ізатізон, в 1-му поколінні виявлено здатність індукувати збільшення частки хлорофілу а ( $C_a : C_b$ ) на 9,2; 6,6 та 9,4 % ( $P < 0,01$ ;  $P = 0,05$  та  $P < 0,001$ ).

У 2-му поколінні виявлено негативний вплив розчинників, які входять до складу Ізатізону, на вміст фотосинтетичних пігментів у листках вівса. У варіантах, де були застосовані розчинники та їх композиція, притаманна препарату Ізатізон, спостерігали зниження вмісту хл а та в (на 10,6–15,9%;  $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$ ;  $P < 0,001$ ); в разі застосування ПЕГ 400 знижувався також вміст каротиноїдів (на 10,0%;  $P < 0,05$ ).

Застосування препарату SS1000 разом з ПЕГ 400 усувало його негативний вплив на вміст хлорофілів а і в та каротиноїдів у 2 поколінні, в той час як за використання SS1000 разом з композицією розчинників ПЕГ 400 та ДМСО негативний вплив на вміст хлорофілів та каротиноїдів виявлявся такою ж мірою, як і для композиції розчинників, використаної окремо.

У 2-му поколінні спостерігали зміни співвідношень вмісту основних форм хлорофілу в листках вівса: збільшення частки хлорофілу а – за обробки насіння комплексом розчинників та у варіантах, де наносрібло SS1000 було застосоване разом із ПЕГ400 та з комплексом ДМСО+ПЕГ 400 (на 3,4–3,9%,  $P < 0,01$ ); збільшення частки хлорофілу в – за дії Ізатізоном та ПЕГ 400 (на 10,1 та 3,5%;  $P < 0,001$ ;  $P < 0,02$ ).

### ЛІТЕРАТУРА

1. Заїка Л.А., Болсунова О.І., Потопальський А.І. Противірусні, протипухлинні та імуномодулюючі властивості лікувального препарату ІЗАТІЗОН. – К.: Колоб'їг, 2010. – 212 с.
2. Кістерська Л.Д., Співак М.Я., Перевертайло В.М., Лазаренко Л.М. та ін. Нанодисперсні суспензії срібла та їх противірусні властивості // Наноструктурне матеріалознавство. – 2010, № 3. – С. 62–69.
3. Харіна А.В., Кот Т.Г., Поліщук В.П., Заєць І.Є., Черватюк Н.В., Потопальський А.І. Ізатізон як інгібітор фітовірусних інфекцій // Мікробіологія і біотехнологія. – 2009, № 8. – С. 58–63.
4. Кацан В.А., Юркевич Л.Н., Потопальський А.І. Ізатізон та наносрібло здатні індукувати зміни ростових процесів та продуктивності вівса сорту Незламний, які зберігаються в наступних поколіннях // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. праць / Під ред. В.А. Кунаха [та ін.]. – К.: Логос, 2015. – 6 – С. 114–119.
5. Bartłomiejczyk T., Lankoff A., Kruszewski M., Szumiel I. Silver Nanoparticles – Allies or Adversaries? // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2013. – 20, № 1. – P. 48–54.
6. Nair P.M., Chung I.M. Physiological and molecular level effects of silver nanoparticles exposure in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings // *Chemosphere*. – 2014. – 112, № 10. – P. 105–113.
7. García-Sánchez S., Bernaldes I., Cristobal S. Early response to nanoparticles in the *Arabidopsis* transcriptome compromises plant defence and root-hair development through salicylic acid signaling [Electronic resource] // *BMC Genomics*. – 2015. – 16:341. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4417227/>.
8. Wang J., Koo Y., Alexander A., Yang Y., Westerhof S., Zhang Q., Schnoor J.L., Colvin V.L., Braam J., Alvarez P.J. Phytostimulation of poplars and *Arabidopsis* exposed to silver nanoparticles and Ag<sup>+</sup> at sublethal concentrations // *Environ Sci. Technol.* – 2013. – 47, № 10. – P. 5442–5449.
9. Кацан В.А., Потопальський А.І. Особливості дії екзогенних нуклеїнових кислот при отриманні нових форм тютюну. – К.: Колоб'їг, 2007. – 176 с.
10. Su L.C., Deng B., Liu S., Li L.M., Hu B., Zhong Y.T., Li L. Isolation and characterization of an osmotic stress and ABA induced histone deacetylase in *Arachis hypogaea* [Electronic resource] // *Front Plant Sci*. – 2015. – 6:512. – Mode of access: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X1630016X>.
11. Uzilday B., Turkan I., Ozgur R., Sekmen A.H. Strategies of ROS regulation and antioxidant defence during transition from C3 to C4 photosynthesis in the genus *Flaveria* under PEG-induced osmotic stress // *J. Plant Physiol.* – 2014. – 171, № 1. – P. 65–75.
12. Kakolyri M., Margaritou A., Tiligada E. Dimethyl sulphoxide modifies growth and senescence and induces the non-reversible petite phenotype in yeast [Electronic resource] // *FEMS Yeast Res.* 2016 – 16 (2). – Mode of access: <http://www.femsyr.oxfordjournals.org/content/16/2/fow008.long>.

KATSAN V.A.<sup>1</sup>, YURKEVYCH L.N.<sup>1,2</sup>, POTOPALSKY A.I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Molecular Biology and Genetics of Natl. Acad. Sci. of Ukraine, Ukraine, 03680, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 150, e-mail: val.katsan@gmail.com

<sup>2</sup> Institute of health improvement and rebirth of the peoples of Ukraine, Ukraine, 03680, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 150

### INFLUENCE OF IZATISON AND NANOSILVER ON THE CONTENT OF THE PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN THE OAT NEZLAMNY OVER TWO GENERATIONS AFTER TREATMENT

**Aim.** The aim of this study is the investigations of chlorophylls (*chl*) and carotenoids content in the oat leaves over 2 generations after treatment by the preparations Izatizone (**Iz**), Izatitony (**It**; Iz+etony) and the nanosilver SS1000 (**S**).

**Methods.** The oat seeds were treated by the preparations, DMSO (**D**) and PEG 400 (**P**), to be the constituents of Iz. The plants were grown on the land; *chl a* and *b* and carotenoids content was determined from leaf discs after the cold extraction in acetone followed by spectrophotometry. **Results.** It is found the increase of *chl a/b* ratio conditioned by Iz, S+D+P and S+D in the 1 generation. The negative influence of D; P and D+P on *chl a* and *b* content was revealed in the 2 generation; the increase of *chl a* portion depended on D+P, S+P, S+D+P; the increase of *chl b* portion – on Iz and P.

**Conclusions.** Izatison and its constituents DMSO and PEG 400 caused the changes of the *chl a/b* ratio, those had been observed over 2 generations after treatment.

**Keywords:** Izatison, nanosilver, chlorophylls, carotenoids, chlorophyll *a/b* ratio.