

## **ВПЛИВ ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК РИЗОСФЕРНОГО ҐРУНТУ З-ПІД ВИДІВ РОДУ ECHINACEA MOENCH НА ЦИТОФІЗІОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ В КЛІТИНАХ ГОРОХУ ПОСІВНОГО**

*Вивчено вплив етанольної витяжки ризосферного ґрунту з-під інтродукованих видів роду Echinacea Moench на цитофізіологічні властивості та мітотичні індекси клітин кінчиків корінців гороху посівного.*

Відомо, що види ехінацеї широко застосовуються в медицині, але їх алелопатичні властивості недостатньо досліджені. З видів роду Echinacea Moench в Україні інтродуковано лише три: е. пурпурову (*E. purpurea* (L.) Moench), е. бліду (*E. pallida* (Nutt) Nutt), е. вузьколисту (*E. angustifolia* DC).

Одними з важливих складових органічної структури ґрунту є лігнін та дубильні речовини — попередники фенольних сполук. Залежно від хімічної природи і концентрації вони пригнічують чи стимулюють ріст рослин, а також виконують функцію проміжних компонентів у процесі гумусоутворення. Кількість виділених з ґрунту фенольних сполук є показником алелопатичної напруги ризосфери. Тому багато уваги в алелопатії приділяється саме вивченню хімічного та мікробіологічного складу ґрунтів. Сполуки, які нагромаджуються в субстраті, відіграють важливу роль у взаємовідносинах рослин та мікроорганізмів [6, 10]. Зазвичай, до складу ґрунту під багаторічними рослинами входять фенолкарбонові сполуки: ферулова, п-кумарова, п-гідроксibenзойна, ванілінова, сирінгова кислоти, причому їх кількість залежить від способу обробки ґрунту [23]. Кількість цих сполук коливається від 1—2 до 9—14 мг на 1 кг сухого ґрунту. Також було доведено

[24], що в різних типах ґрунтів майже завжди містяться п-гідроксibenзойна, ванілінова і п-кумарова кислоти (від слідових кількостей до 5—6 мг на 1 кг сухого ґрунту). При цьому вміст п-кумарової кислоти коливався найбільше при внесенні органічного добрива. Ця кислота є найактивнішою серед досліджуваних речовин.

При дослідженні ризосферних ґрунтів під *E. purpurea*, *E. pallida* та *E. angustifolia* було показано їх алелопатичну активність [21]. Причому із ризосферного ґрунту під *E. purpurea* та *E. angustifolia* третього року вегетації у фазі досягання насіння було виділено і визначено сім фенолкарбонових кислот: ферулову, сирінгову, ванілінову, п-оксibenзойну, п-кумарову (транс- та цис-), м-кумарову, тоді як в контрольному ґрунті та в ґрунті під *E. pallida* ідентифіковано майже всі зазначені вище фенолкарбонові кислоти, крім м-кумарової.

Для вивчення алелопатичних взаємодій у цілому необхідно всебічно та глибоко дослідити окремі аспекти цієї проблеми, шляхи утворення алелопатично активних речовин у рослинах — колінів та з'ясувати їхню хімічну природу, виділення їх у навколишнє середовище тощо [8—10, 13].

До важливих складових вивчення зазначеної проблеми належать цитологічні та цитофізіологічні дослідження алелопатичних явищ.

Відомо, що через кореневу систему відбувається не тільки поглинання мінеральних та органічних сполук, а й виділення в прикореневу зону рослин окремих речовин, які відіграють певну роль в алелопатичній взаємодії між окремими видами рослин та їх органами. Останні вивчалися З. Лаштункою, Т.П. Буколовою, Г.П. Богдан, А.М. Гродзінським та ін. [3, 4, 8, 9, 24, 25]. Так, Т.П. Буколовою [3, 4] підтверджено вплив витяжок з рослин на мітотичні індекси кінчиків корінців гороху, жита та пшениці і доведено, що витяжки лободи білої (*Chenopodium album* L.) та бодяка польового (*Cirsium arvense* (L.) Scop.) пригнічували розвиток рослин та кількість і швидкість мітозів у кінчиках корінців гороху, знижували мітотичні індекси та спричиняли різноманітні аномалії мітозів. Під впливом витяжок з надземних частин осоки піщаної (*Carex arenaria* L.) збільшувалась частка метафаз у загальній кількості поділів клітин.

Розвиток будь-якого багатоклітинного організму, функціонування систем його органів та тканин зумовлені поділом (проліферацією) клітин [5]. За літературними даними [11, 22], фази  $G_1$  та  $G_2$  мітотичного циклу мають кількісні та якісні характеристики. В цих фазах, а це перші 24—48 год поділу, можуть відбуватися істотні зміни під впливом зовнішнього фактора, тобто під впливом фізіологічно активних сполук.

М.Ф. Козак, вивчаючи ритми мітозу у двох видів сої — *Glycine max* (L.) Merr. (*G. hispiola* Max.) та *G. soja* Sieb & Zucc (*G. ussuriensis* Reg. & Maak), а також у гібридів, отриманих від схрещування цих видів, дійшов висновку, що піки мітотичної активності припадають на певну годину: 6-, 12-, 18- або 21-шу, залежно від виду сої [15]. За літературними джерелами [7, 15], елодеї (*Elodea canadensis* L.) притаманні 3 піка активності, традесканції (*Tradescantia viridis* L.) — 4, буркуну (*Melilotus officinalis* L.) — 8, цукровому буряку (*Beta vulgaris* L.) — 5 тощо. Окрім добового ритму поділу клітин спостерігаються чіткі ритми

поділу клітин під час росту зародкового корінця сої та природна синхронізація зародкових меристем сої. Кількість мітозів залежить від довжини кореня.

Таким чином, на інтактних тканинах рослин можна спостерігати процеси проростання, аналізувати вихід із стану спокою та вступ у мітоз і зіставляти процеси з фізіологічною активністю [20].

### Матеріали та методи

Об'єкт досліджень — ризосферний ґрунт з-під трьох видів роду *Echinacea*: *e. пурпурової*, *e. білої* та *e. вузьколистої*, отриманий з Полтавського державного аграрного університету.

Алелопатичну активність водорозчинних та летких виділень ґрунту досліджували методом біологічних тестів, з тест-культурою гороху посівного (сорт "Охотвичан"), на якій вивчали мітотичну активність кінчиків корінців [17—19, 21]. Аналізували стан клітин кінчиків корінців гороху посівного під впливом витяжок з ґрунтів з-під зазначених вище видів ехінацеї. Фенольні сполуки з ґрунту виділяли за методикою А.М. Гродзінського зі співавт. [9]. Ростову активність ґрунтових екстрактів різних видів ехінацеї вивчали за двома параметрами: довжиною та масою сирої речовини коренів та гіпокотилів пророслого гороху. Для порівняння властивостей етанольних ґрунтових витяжок при концентрації 1,54% застосовували біотест з пророслим насінням гороху. Контролем був чорний пар. Отримані експериментальні дані обробляли методом варіаційної статистики [12].

Як тест-культуру було обрано меристему коренів пророслого насіння гороху. Для синхронізації вступу клітин до першого клітинного циклу насіння гороху відбирали за морфологічними ознаками — розміром та формою, які мали бути однаковими.

Дослідження мітотичного індексу меристеми кореня проводили цитологічним методом на проростках гороху в стадії проліферації.

Набухле насіння (по 10 шт. в кожній чашці Петрі) заливали до половини об'єму витяжками з ґрунтів, витримували в термостаті при температурі 24 °С протягом 38—41 год. За цей термін довжина корінців досягала 12—15 мм, що свідчило про те, що насіння перебувало в стадії проліферації — активного поділу клітин мітотичного циклу [11]. Кінчики корінців завдовжки 10 мм розміщали у флакончиках з фіксатором Карнуа, далі готували пофарбовані ацетоорсеїном препарати за описаною загальноприйнятою методикою [1, 2, 16, 17]. Підраховували клітини, проглядаючи препарати в світловому мікроскопі МБІ-6 при збільшенні 60×15 у 3—5 повторностях (див. таблицю).

#### Результати та їх обговорення

За даними Е. Рис та В.М. Троян [19, 20], дослідження процесів, які відбуваються у період між двома послідовними поділами клітин у мітотичному циклі, дало можливість розподілити мітотичний цикл на чотири фази: пресинтетичну ( $G_1$ ), фазу синтезу ДНК ( $G_2$ ), постсинтетичну (S) та фазу власне поділу клітини (M-мітоз).

У наших дослідах встановлено, що в меристемі коренів гороху, оброблених етанольними ґрунтовими витяжками на початковому етапі спостерігається стимуляція,

про що свідчать підвищені значення мітотичних індексів порівняно з контролем (див. таблицю).

Вивчення впливу етанольної витяжки з ризосферного ґрунту на довжину і масу стебел і корінців гороху показало, що стимуляція маси коренів *E. purpurea* мала місце при таких розведеннях:  $10^{-2}$  ( $70,37 \pm 0,006$ ) %,  $10^{-3}$  ( $51,04 \pm 0,36$ ) %,  $10^{-4}$  ( $15,63 \pm 0$ ) %,  $10^{-6}$  ( $79,63 \pm 1,63$ ) %,  $10^{-8}$  ppm стимуляція була в межах ( $90,75 \pm 6,16$ ) %, порівняно з контролем (рис. 1). Стимуляція маси стебел мала місце в межах коливання від ( $6,67 \pm 0,003$ ) % до ( $35,78 \pm 0,002$ ) % в цих же самих спектрах розведень. Розведення витяжки ґрунту з-під *E. purpurea* значно меншою мірою впливає на довжину стебел та корінців, ніж на їх масу сирої речовини (рис. 1) порівняно з контрольними варіантами (рис. 3).

У *E. pallida* найчутливішими до етанольних витяжок були корінці, про що свідчать 6 піків активності:  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$  ppm (рис. 2). Тут значення стимуляції було нерівномірним та коливалося в межах від ( $+3,01 \pm 0,0025$ ) до ( $+54,48 \pm 0,0064$ ) %. Щодо маси стебел, та фізіологічна активність була значно меншою і коливалась від ( $3,28 \pm 0,095$ ) до ( $20,84 \pm 0$ )% у цих же спектрах розведень. Довжина стебел та коренів проростків гороху виявилася менш

#### Вплив етанольних ґрунтових витяжок з-під видів *Echinacea* на цитофізіологічні процеси в проростках гороху

Варіант	Кількість досліджуваних клітин, шт.	Загальна кількість клітин, що діляться	Мітотичні індекси, %	Профаза		Метафаза		Анафаза		Телофаза	
				1	2	1	2	1	2	1	2
Контроль (чорний пар)	690	56,5	8,19	19,5	2,83	15	2,17	4	0,58	17	2,46
<i>E. purpurea</i>	552	105	19,02	81	14,67	16	2,9	1	0,18	1	0,18
<i>E. pallida</i>	760	204	26,97	189	21	10	1,11	2	0,22	1	0,11
<i>E. angustifolia</i>	356	75	21,07	46	12,92	13	3,65	6	1,685	10	2,81

Примітки. 1 — % до кількості клітин, що діляться;  
2 — % до загальної кількості досліджуваних клітин.

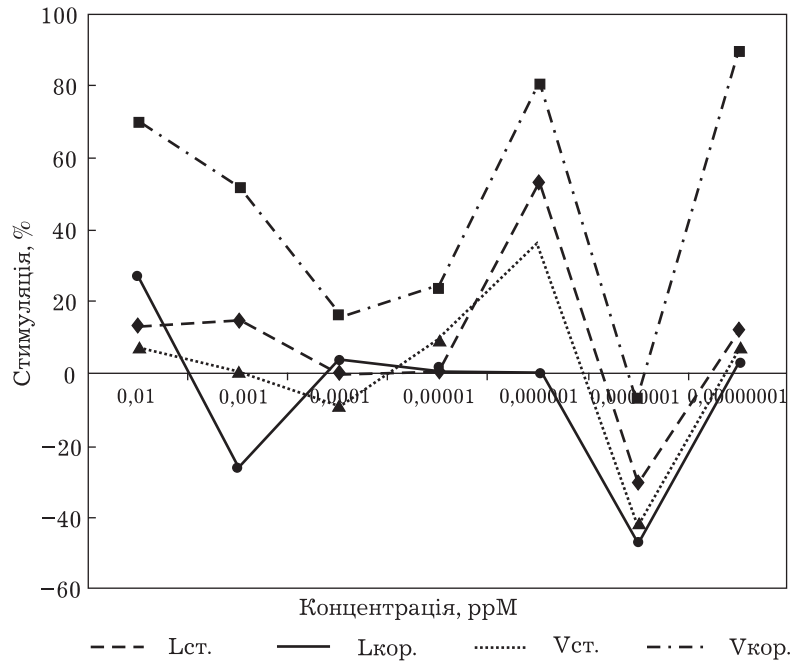


Рис. 1. Вплив етанольної витяжки з ґрунту з-під *E. purpurea* на проростки гороху: Лст. — довжина стебел; Лкор. — довжина корінців; Вст. — маса стебел; Вкор. — маса корінців

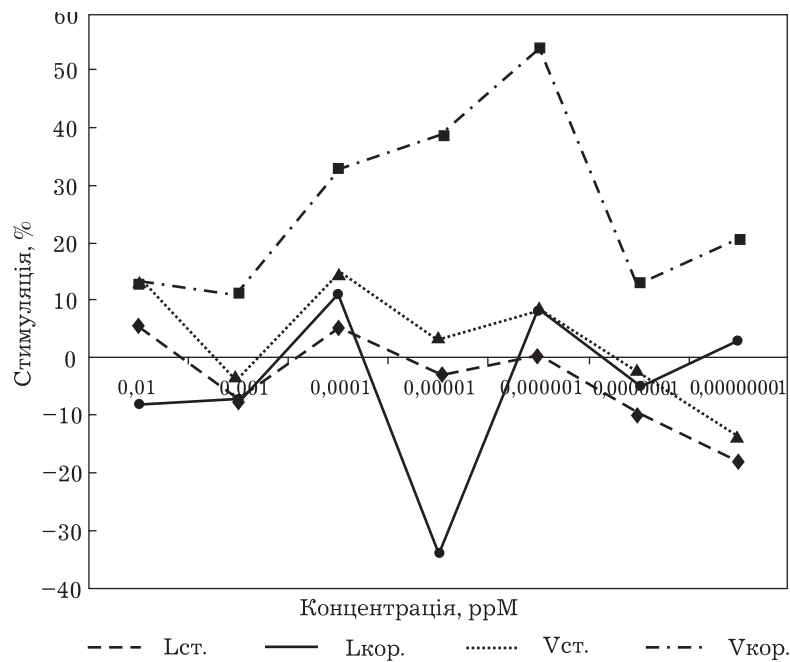


Рис. 2. Вплив етанольної витяжки з ґрунту з-під *E. pallida* на проростки гороху: Лст. — довжина стебел; Лкор. — довжина корінців; Вст. — маса стебел; Вкор. — маса корінців

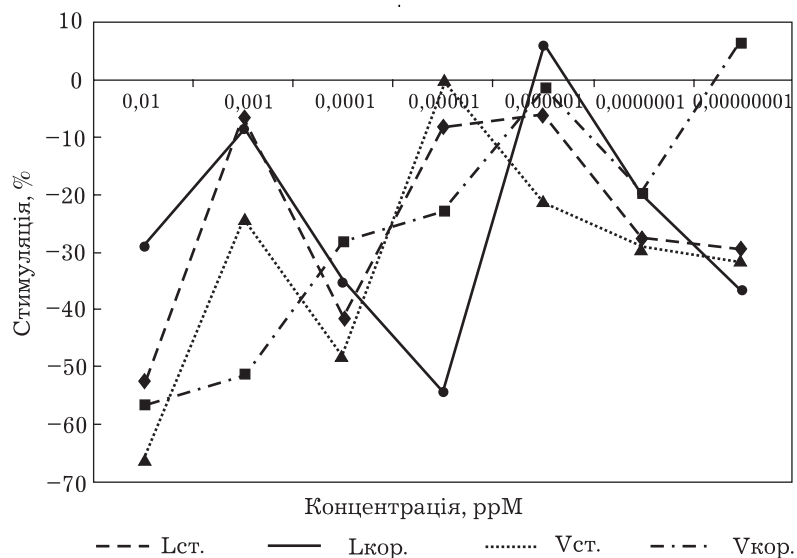


Рис. 3. Вплив етанольної витяжки з контрольного ґрунту на проростки гороху: Lст. — довжина стебел; Лкор. — довжина корінців; Vст. — маса стебел; Vкор. — маса корінців

чутливою до концентрації витяжок, ніж їхня маса (рис. 3) порівняно з контролем.

Таким чином, вивчаючи етанольні витяжки ризосферного ґрунту з-під різних видів *Echinacea*, ми дійшли висновку про їх високу фізіолого-біохімічну активність. Піки підйому та спаду кривих на рис. 1, 2 та 3 підпорядковуються правилу доза-ефекту [14, 18], яке проявляється в наявності декількох верхніх точок активності розчину, розраховується у відсотковому співвідношенні до контролю і залежить від реакції рослинного організму (стебел і корінців) та дози розчину діючої речовини.

Мітотичні індекси на початкових етапах поділу клітин зазнають впливу зовнішніх факторів, таких як температура, фізіологічно активні сполуки, токсиканти, фітогормони тощо, які залежно від їх дії спричиняють різні процеси: прискорення або пригнічення поділу клітин у кореневих меристемах тест-культури. В нашому випадку спостерігалось прискорення поділу клітин під впливом біологічно активних сполук витяжок ризосферного ґрунту, про

що свідчило збільшення мітотичних індексів у відсотковому відношенні до контролю.

### Висновок

Порівнюючи рис. 1 та 2, можна зробити висновок про стимулюючу активність етанольних витяжок з ґрунтів з-під *E. purpurea*, *E. pallida*. Витяжки з ґрунтів з-під *E. pallida* мають більший вплив на мітотичний індекс клітин корінців гороху, ніж витяжки з ґрунтів з-під інших видів.

Подальші дослідження поділу клітин у кореневих меристемах у стадії проліферації сприятимуть вивченню впливу на тест-культури деяких біологічно активних сполук.

Аналіз отриманих результатів досліджень ризосферного ґрунту з-під видів роду *Echinacea* показав, що кореневі виділення *E. purpurea*, *E. pallida*, *E. angustifolia* не є токсичними і мають стимулюючий вплив на ріст та розвиток рослин, а також сприяють підвищенню біологічної активності ґрунту.

1. *Абрамова З.В.* Практикум по генетике. — М.: Агропромиздат, 1992. — 224 с.
2. *Адамс Р.* Методы культуры клеток для биохимиков. — М.: Мир, 1983. — 263 с.
3. *Буколова Т.П.* Анатомические изменения у растений, обусловленные воздействием аллелопатически активных веществ // Природная флора Украины и Молдавии и обогащение ее путем интродукции. — К.: Наук. думка, 1972. — С. 17—19.
4. *Буколова Т.П.* Структурно-физиологическое действие активных веществ остатков культурных и сорных растений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — К., 1973. — 24 с.
5. *Глазко В.И., Глазко Г.В.* Введение в генетику. — К.: КВЦ, 2003. — 640 с.
6. *Головко Э.А.* Микроорганизмы в аллелопатии высших растений. — К.: Наук. думка, 1984. — 199 с.
7. *Гриф В.Г., Иванов И.Б.* Данные о временных параметрах митотического цикла у цветковых растений // Цитология. — 1980. — 22, № 2. — С. 107—120.
8. *Гродзинский А.М., Головко Е.А., Горобец С.А.* и др. Экспериментальная аллелопатия. — К.: Наук. думка, 1987. — 235 с.
9. *Гродзинский А.М., Горобец С.А., Крупа Л.И.* Руководство по применению биохимических методов в аллелопатических исследованиях почв. — К.: ЦРБС АН УССР, 1988. — 18 с.
10. *Грюммер Г.* Взаимное влияние высших растений. Аллелопатия. — М.: Иностран. лит-ра, 1957. — 262 с.
11. *Гудков И.Н.* Кинетика клеточного цикла на начальных фазах развития растений. Клеточный цикл растений в онтогенезе. — К.: Наук. думка, 1988. — С. 5—15.
12. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта с основами статистической обработки. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
13. *Елланська Н.Е., Щербакова Т.О., Хохлова І.Г., Юношева О.П.* Мікробні угруповання та біологічна активність ризосфери різних видів ехінацеї // Інтродукція рослин. — 2004. — № 3. — С. 65—69.
14. *Иванова И.А.* Зависимость между реакцией и дозой у растительных организмов // Тезисы докладов симпозиума по стимуляции растений. — София, 1966. — С. 11—12.
15. *Козак М.Ф.* Ритмы митоза у представителей рода *Glucine L.* // Цитология и генетика. — 2004. — 38, № 6. — С. 7—12.
16. *Колесников В.А., Троян В.М., Зеленин А.В.* Исследование содержания ДНК и доступности хроматина к красителям в ядрах клеток корневой меристемы прорастающих семян гороха // Клеточный цикл растений: Материалы I Всесоюз. совещания. — К.: Наук. думка, 1983. — С. 32—34.
17. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с.
18. *Рассоха С.Н.* Определение активности эмитима С на разных фазах прорастания гороха *Pisum sativum L.* // Интродукция рослин. — 2002. — № 3-4. — С. 140—145.
19. *Рус Э.* Введение в молекулярную биологию: от клеток к атомам. — М.: Мир, 2002. — 141 с.
20. *Троян В.М.* Клітинний цикл рослин та його регуляція. — К.: Наук. думка, 1988. — 171 с.
21. *Щербакова Т.О.* Динамика аллелопатичної активності інтродукованих видів роду *Ехінацея* // Онтогенез рослин, біологічна фіксація молекулярного азоту та азотний метаболізм: Матер. міжнар. наук. конф. (1—4 жовтня 2001 р., Тернопіль). — Тернопіль, 2001. — С. 52—55.
22. *Gelfant S., Smith J.* Aging monocycling cells an euplanation // Science. — 1972. — 178, N 4059. — P. 357—361.
23. *Guenzi W.D., McCalla T.M.* Phytotoxic substances extracted from soil // Soil Sci. Soc. Amer. Proc. — 1966. — N 30. — P. 2.
24. *Hennequin I.R., Juste C.* Presence d'acides phenols libres dans le sol. Etude de leur influence sur la germination et la croissance des vegetaux // Ann. Agroh. — 1967. — 18. — P. 5.
25. *Lästuvka Z., Minar J.* Pea growth and ion accumulation at varying seed density // Biol. plant. Acad. Sci. Bohemose. — 1970. — N 12. — P. 3.

Рекомендувала до друку  
Л.Д. Юрчак

*Рассоха С.Н.*

Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины, Украина, г. Киев

**ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РИЗОСФЕРНОЙ ПОЧВЫ ИЗ-ПОД ВИДОВ РОДА ECHINACEA MOENCH. НА ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТКАХ ГОРОХА ПОСЕВНОГО**

Изучено влияние этанольной вытяжки ризосферной почвы из-под интродуцированных видов рода *Echinacea Moench.* на цитофизиологические особенности и митотические индексы клеток кончиков корешков гороха посевного.

*S.N. Rassokha*

M.M. Gryshko National Botanical Gardens, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, Kyiv

INFLUENCE OF PHYSIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS OF THE RIZOSPHERIC SOIL UNDER SPECIES OF ECHINACEA MOENCH. ON

CITOPHYSIOLOGICAL PROCESSES IN PEA PLANT CELLS

Citophysiological properties of rizospheric soils under Echinacea Moench. species were studied. The activity of rizospheric soil according to mitotic index was analysed.