

УДК 577.151.6:582.573.16

**М. С. КАЗНАЧЄЄВА**<sup>1</sup>, зав. лабораторії кафедри біології,  
**О. І. ЦЕБРЖИНСЬКИЙ**<sup>2</sup>, докт. біол. наук, професор

<sup>1</sup> Кіровоградський державний педагогічний університет  
імені В. К. Винниченка,

вул. Шевченка, 1, Кіровоград, 25006, Україна,  
e-mail: kazna4eeva@gmail.com

<sup>2</sup> Миколаївський державний університет імені В. О. Сухомлинського,  
вул. Нікольська, 24, Миколаїв, 54030, Україна,  
e-mail: tsebrzhinsky@mail.ru

## ВМІСТ МАЛОНОВОГО ДІАЛЬДЕГІДУ В СОРТАХ РОСЛИН, РІЗНИХ ЗА РІВНЕМ СТІЙКОСТІ ДО ХВОРОБ

За допомогою спектрофотометричного методу визначено кількісні показники фонового та стимульованого рівня малонового діальдегіду в істивних частинах моркви та капусти білокачанної різних за стійкістю сортів. Виявлено прямо пропорційний зв'язок між рівнем стійкості сорту рослин до хвороб та вмістом малонового діальдегіду в його тканинах. Відмічені особливості проведення кількісного біохімічного аналізу малонового діальдегіду в рослинних об'єктах.

**Ключові слова:** перекисне окиснення, біополімери, малоновий діальдегід, антиоксидантний потенціал, стійкість, капуста білокачанна, морква.

Активні форми кисню (АФК), що є обов'язковими продуктами аеробного метаболізму, викликають вільнорадикальне перекисне окиснення біополімерів [1], особливо молекул поліненасичених жирних кислот клітинних мембран [2].

Малоновий діальдегід (МДА,  $O=HC-CH_2-CH=O$ ) є вторинним продуктом вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів [3]. Утворюється при атаці синглетним киснем ( $*O_2$ ) та гідроксил-радикалом ( $\cdot OH$ ) молекул поліненасичених жирних кислот, зокрема лінолевої, в 9-, 12-, 13-, 16-положенні для  $\cdot OH$  та в 9-, 10-, 12-, 13-, 15-, 16-положенні для  $*O_2$  [4].

МДА при кімнатній температурі вступає в неферментативну реакцію з аміногрупами біополімерів (реакція Майярда) — пептидів та білкових фрагментів, нуклеїновими кислотами, продуктами розпаду хлорофілів, гему [5], взаємодіє з протеогліканами, ліпопротеїдами, мукополісахаридами, утворюючи флуоресціюючі продукти типу шифових основ з утворенням міжмолекулярних зшивок біомолекул [3].

Це небезпечно тим, що зміна структури білкових молекул пов'язана зі зміною їх просторової конформації та функцій, роблячи їх антигенами для власної імунної системи, викликаючи аутоалергічні реакції у тварин та реакцію надчутливості у рослин [6]. Взаємодія МДА з аміногрупами азотистих основ ДНК призводить до зшивок двох ниток, що перешкоджає подальшій реплікації або транскрипції.

Процеси вільнорадикального перекисного окиснення біополімерів супроводжують нормальний стан аеробних організмів та помітно посилюються при дії несприятливих умов [1], тому визначення вмісту МДА має дуже

важливе значення для діагностики хвороб як тваринного, так і рослинного організму. Так, концентрація фонового рівня малонового діальдегіду (МДА<sub>0</sub>) служить маркером загального окисного стресу, а стимульований прооксидантами (МДА<sub>1,5</sub> та ΔМДА) — є одним із показників антиоксидантного потенціалу та стійкості організму [4, 7].

Слід звернути особливу увагу на те, що в літературі бракує інформації про зв'язок стійкості сорту рослин до хвороб з рівнем МДА. Таким чином, метою даного дослідження є порівняльний аналіз фонового та стимульованого рівня малонового діальдегіду в істивних частинах сільськогосподарських рослин стійких і нестійких до хвороб сортів.

#### Матеріали та методи дослідження

Досліджували рівень малонового діальдегіду в рослинах стійких та малостійких сортів капусти білокачанної та моркви врожаю 2009 року. Сортові характеристики дослідних рослин наведені в таблиці 1 [8, 9].

Таблиця 1

Сортові характеристики дослідних рослин

Вид рослин	Сорт	Стійкість до хвороб (бали)*
Морква	Карнавал	9
	Нантська Харківська	5
Капуста білокачанна	Тарас F <sub>1</sub>	9
	Іюльська	5

Примітка: \* — у таблиці наведена стійкість рослин до вторгнення патогенів бактеріальної, вірусної та грибової природи (так звана горизонтальна стійкість, або неспецифічна імунна відповідь [10]).

Зразки для біохімічного аналізу капусти добували з поперечного перерізу качана, для аналізу моркви використані зразки поперечного перерізу коренеплоду (дослідні овочеві культури перебували на стадії росту і формування). По кожному сорту рослин було відібрано 10 зразків для аналізу.

Дослідження рівня МДА здійснювали на основі загальноприйнятої методики [11], згідно з якою 0,5 г тканини гомогенізували в 4,5 мл буферного розчину (рН = 7,4) такого складу: 1,9 г тріс-(окси)-метиламінометану, 50 мл 0,1 н НСl, 1,4 г аскорбінової кислоти, 32 мг FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O на 1 л розчину. Для визначення фонового рівня малонового діальдегіду (МДА<sub>0</sub>) до 2 мл відібраного гомогенату відразу додавали 30-процентний розчин трихлороцтової кислоти та центрифугували 30 хв., при 3000 об/хв. До 2 мл центрифугату додавали 3 мл розчину тіобарбітурової кислоти (0,338-процентний розчин, приготування *ex tempore*), інкубували 50 хв., на кип'ячій водяній бані з подальшим фотометруванням утвореного триметинового комплексу при 540 нм проти контролю, що не містив гомогенату. Для ініціації приросту рівня МДА (МДА<sub>1,5</sub>) пробу інкубували 90 хв. (1,5 години, тому МДА<sub>1,5</sub>) у прооксидантному залізо-аскорбінатному буферному розчині.

Розрахунки здійснювали за формулою:

$$C = E \times 240,4,$$

де С — концентрація МДА в мкмоль/кг;

Е — екстинкція;

240,4 — коефіцієнт, що враховує молярну екстинкцію і розведення.

Величину приросту рівня МДА, що обернено пропорційна антиоксидантному запасу тканини, розраховували згідно з формулою:

$$\Delta\text{МДА} = | \text{МДА}_{1,5} - \text{МДА}_0 | / \text{МДА}_0 \times 100\%,$$

де  $\Delta\text{МДА}$  — приріст рівня МДА, виражений у відсотках;

$\text{МДА}_0$ ,  $\text{МДА}_{1,5}$  — фоновий та стимульований рівні МДА у мкмоль/кг, відповідно.

Враховуючи біологічні особливості рослинних об'єктів, а саме наявність целюлозної клітинної стінки, механічна гомогенізація тканин здійснювалася з використанням стерильного скляного піску. Температура інкубації проб була дещо знижена від рекомендованої в методиці (37°C) до агрономічної норми температурного режиму вирощування сільськогосподарської продукції і складала: для капусти — 15°C, для моркви — 18°C [9]. Це пов'язано з тим, що температура 37°C є оптимальною для людини і гомойотермних тварин, а у рослин — викликає тепловий шок та зміну конформації білкових молекул, що може вплинути на результати дослідження [10].

Статистичне опрацювання цифрових результатів дослідження провадилося за критерієм Стьюдента згідно із загальноприйнятими методиками [12]. Достовірно різними вважались результати при  $p < 0,05$ .

#### Результати дослідження та їх обговорення

Результати кількісного визначення рівня МДА наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

#### Вміст малонового діальдегіду в тканинах сільськогосподарських рослин різних сортів

№	Вид рослин	Сорт	Вміст МДА		
			МДА <sub>0</sub> , Мкмоль/кг	МДА <sub>1,5</sub> , мкмоль/кг	ΔМДА, %
1	Морква	Карнавал	41,64±1,99	23,03±0,77	48,68±3,67
		Нантська Харківська	35,72±0,66*	22,86±0,75	41,65±3,55
2	Капуста білокачанна	Тарас F <sub>1</sub>	30,75±1,90	8,87±1,61	72,17±3,88
		Іюльська	17,09±0,66*	4,96±0,17*	70,63±1,44

Примітка: \* — вірогідність результатів аналізу ( $p < 0,05$ ) при порівнянні показників малостійких сортів («Нантська харківська», «Іюльська») з високостійкими («Карнавал», «Тарас F<sub>1</sub>») в межах виду рослин. МДА<sub>0</sub> — фоновий рівень малонового діальдегіду, МДА<sub>1,5</sub> — стимульований рівень малонового діальдегіду, ΔМДА — приріст рівня малонового діальдегіду.

Аналіз отриманих результатів свідчить, що фоновий рівень МДА моркви сорту «Карнавал» в 1,17 разу перевищує аналогічні показники для моркви сорту «Нантська харківська». Це можливо пояснити участю АФК у захисних реакціях на вторгнення патогенів до рослинного організму: роль у рецепції чужорідних агентів, радіопротекторна роль та реакція надчутливості, яку спричинює окиснювальний вибух — процес утворення значної кількості АФК у відповідь на вторгнення авірулентних патогенів до рослинної клітини [13]. Стимульований рівень МДА та його приріст є практично однаковими для різних за рівнем стійкості сортів моркви. Це вказує на те, що стійкіші сорти рослин мають вищий антиоксидантний потенціал, який перешкоджає подальшому збільшенню рівня МДА, про що свідчать значення показників  $\Delta$ МДА.

Аналогічна закономірність спостерігається для рослин капусти білокачанної. Так, значення МДА<sub>0</sub> для стійкого сорту «Тарас F<sub>1</sub>» в 1,80 разу перевищує аналогічний показник «Юльської», а МДА<sub>1,5</sub> — в 1,79 разу. Але приріст рівня МДА —  $\Delta$ МДА є однаковим для обох сортів.

Характерним є те, що для дослідних частин рослин моркви та капусти значення фонового рівня МДА переважає над стимульованим, що пов'язане з їх значною антиоксидантною активністю та забезпеченням так званого «захисту від вторгнення» патогенів.

Отже, можна припустити, що посилення утворення АФК спричинює підвищення фонового рівня МДА, та у свою чергу активізує процеси антиоксидантного захисту організму [4, 7, 11].

#### Висновки

1. Рівень малонового діальдегіду та його зміни асоціюють зі стійкістю сортів рослин до хвороб.
2. Рослини стійких до хвороб сортів моркви та капусти мають вищі значення показників вихідного рівня МДА порівняно з малостійкими сортами, а отже, і більшу загальну антиоксидантну активність.

#### Література

1. Колупаев Ю. Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вісник Харків. нац. аграрного ун-ту. — 2007. — Вип. 3 (12). — С. 6–26. — (Сер.: Біологія).
2. Костюк В. А., Потапович А. И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. — Минск: БГУ, 2004. — 179 с.
3. Nair V., O'Neil C. L., Wang P. G. "Malondialdehyde" Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, 2008, John Wiley & Sons, New York. Article Online Posting Date: March 14. — 2008. — 832 p.
4. Цебржинский О. И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. — Полтава, 1992. — С. 120–155.
5. Nicholas Smirnoff. Antioxidants and reactive oxygen species in plants. — UK.: Blakwell Publishing Ltd. — 2005. — 317 p.
6. Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. — СПб.: Изд-во С.-Петербурга. ун-та, 2002. — 240 с.
7. Methods in Molecular Biology. Free radicals and antioxidants. Protocols / Ed. by Dolland Armstrong, 2006. — Vol. 196. — 352 p.
8. Офіційний електронний сайт Державної служби з охорони прав на сорти рослин. — Режим доступу: <http://www.sops.gov.ua/>

9. *Мамонов Е. В.* Сортовой каталог овощных культур России. — М.: ООО «Изд-во Астрель», 2003. — 492 с.
10. *Дьяков Ю. Т., Озерецковская О. Л., Джавахия В. Г.* Общая и молекулярная фитопатология. — М.: Мир, 2002. — 304 с.
11. *Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині // За ред. І. П. Кайдашева, О. В. Катрушова, В. М. Соколенко.* — Полтава, 1996. — 271 с.
12. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. — М.: Высш. шк., 1980. — 293 с.
13. *Мусієнко М. М.* Фізіологія рослин. — К.: Либідь, 2005. — 808 с.

**М. С. Казначеева<sup>1</sup>, О. И. Цебржинский<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Кировоградский государственный педагогический университет имени В. К. Винниченко,  
ул. Шевченко, 1, Кировоград, 25006, Украина,  
e-mail: kazna4eeva@gmail.com

<sup>2</sup> Николаевский государственный университет имени В. А. Сухомлинского,  
ул. Никольская, 24, Николаев, 54030, Украина,  
e-mail: tsebrzhinsky@mail.ru

#### **СОДЕРЖАНИЕ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА В СОРТАХ РАСТЕНИЙ, РАЗЛИЧНЫХ ПО УРОВНЮ УСТОЙЧИВОСТИ К ЗАБОЛЕВАНИЯМ**

##### **Резюме**

При помощи спектрофотометрического метода определены количественные показатели фонового и стимулированного уровня малонового диальдегида в съедобных частях моркови и капусты белокочанной, различных по устойчивости сортов. Выявлена прямо пропорциональная связь между уровнем устойчивости сорта к заболеваниям и содержанием малонового диальдегида в его тканях. Отмечены особенности проведения количественного биохимического анализа малонового диальдегида в растительных объектах.

**Ключевые слова:** перекисное окисление, биополимеры, малоновый диальдегид, антиоксидантный потенциал, устойчивость, белокочанная капуста, морковь.

**M. S. Kaznacheeva<sup>1</sup>, O. I. Tsebrzhinsky<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Kirovograd state pedagogical university named after V. K. Vinnichenko, Shevchenko Str., 1, Kirovograd, 25006, Ukraine, e-mail: kazna4eeva@gmail.com

<sup>2</sup> Mykolaiv state university named after V. O. Sukhomlinsky, Nikolska Str., 24, Mykolaiv, 54030, Ukraine, e-mail: tsebrzhinsky@mail.ru

**ABLE OF CONTENTS OF MALONDIALDEGIDE IN SORTS OF PLANTS  
DIFFERENT ON LEVEL OF STABILITY TO THE DISEASES**

**Resume**

Basing on the methods of spectrophotometry the quantitative indexes of background and stimulated level of malondialdehyde were determined parts of carrot and cabbages different on stability of the sorts. There were exposed direct dependence between the level of stability of sort to the diseases and maintenance of malondialdehyde in its tissues. The main features of conducting the quantitative biochemical analysis of malondialdehyde are marked in the vegetable objects.

**Key words:** peroxid oxidation, biopolymers, malondialdehyde, antioxidant potential, stability, cabbages, carrot.