

ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. Ю. ФЕДЬКОВИЧА

На правах рукопису

БЛОШКО
Марина Михайлівна

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАХИСНИХ СИСТЕМ У РОСЛИН
ПРИ ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ ТА ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ

03.00.04 - біохімія

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Чернівці - 1996



00760229 (Q)

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі біохімії і експериментальної екології
Чернівецького державного університету ім. Ю.Федьковича.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Марченко Михайло Маркович

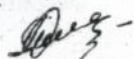
Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Мешишен Іван Федорович
кандидат біологічних наук, доцент
Бутицький Іван Миколайович

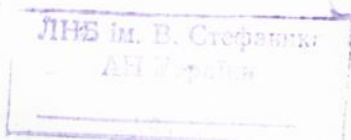
Провідна установа: Київський національний університет
ім.Тараса Шевченка

Захист дисертації відбудеться "26" квітня 1996 р.
о 15⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 07.01.03
при Чернівецькому державному університеті ім. Ю.Федьковича
(274012, м.Чернівці, вул. Коцюбинського, 2).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці
Чернівецького державного університету ім. Ю.Федьковича
(274012, м.Чернівці, вул. Л.Українки, 23).

Автореферат розісланий "25" березня 1996 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої
ради кандидат біологічних наук  Г.П.Копилець



ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Кожен живий організм, починаючи з найпростіших і закінчуючи високоорганізованими, проявляє різну чутливість до дії факторів зовнішнього середовища. Нині гостро стоїть проблема небезпечних концентрацій важких металів в оточуючому середовищі. В результаті "металічного пресу" помітно знижується продуктивність рослин, руйнуються природні фітоцепози, змінюється асиміляційний потенціал фітомаси, порушується нормальний процес онтогенезу [Гуральчук, 1994].

Забруднення навколишнього середовища радіоактивними речовинами - один із найскладніших факторів деградації біосфери [Гродзинский, 1989]. Найнебезпечніше екологічне становище склалося в регіонах, що зазнали забруднення внаслідок Чорнобильської аварії, до яких належить і частина сіл Чернівецької області.

Зрозуміло, що виживання і перебування живих організмів в середовищі можливе завдяки наявності у них різноманітних захисних систем і забезпечується молекулярними та фізіологічними механізмами, які можуть бути специфічними як для якогось одного виду рослин, так і для цілої таксономічної групи того чи іншого рівня [Antonovics, 1971].

Важливою захисною системою рослин є система глутатіону [Meister, 1983], нормальне функціонування ферментів якої не можливе без наявності в клітині відновленого глутатіону, який є одним із основних сірковмісних компонентів живих клітин.

Глутатіонова система працює в напрямку захисту організму від згубної дії продуктів пероксидного окислення ліпідів, що утворюються при різних стресах, регулює окисно-відновні процеси,

знешкоджує ксенобіотики, виконує радіопротекторні функції [Deneke, 1989, Мещишен, 1991].

До системи захисту від ушкоджень внаслідок пероксидного окислення ліпідів належать також ферменти, що інактивують вільні радикали та пероксиди: супероксиддисмутаза, каталаза та різноманітні пероксидази. Фізіологічна антиоксидантна система забезпечує підтримання окислювального гомеостазу при дії не тільки радіації, а й багатьох інших екстремальних агентів. Крім того, показано, що у різних рослин спостерігаються певні відмінності в толерантності до екзогенних факторів.

В зв'язку з викладеним вивчення стану захисних систем вищих квіткових рослин при дії іонів важких металів та рентгенівських променів є досить актуальним.

Мета і основні завдання дослідження. Метою даної роботи було вивчення впливу іонів металів (алюмінію, нікелю, кадмію, стронцію) та малих доз іонізуючої радіації як автономної, так і сумісної їх дії, на біохімічні і морфологічні показники вищих мохових і вищих квіткових рослин, як в лабораторних так і натурних умовах. Відповідно до мети поставлено такі завдання:

- встановити рівні токсичності металів (алюмінію, нікелю, кадмію, стронцію) та їх мінімальні і максимальні концентрації з використанням модельної системи з протонеюмою моху *Funaria hygrometrica* Hedw.;

- з'ясувати вплив іонів металів та характеру опромінення на морфологічні параметри протонеми моху *F. hygrometrica* Hedw.;

- вивчити стан системи глутатіону при дії іонів кадмію та малих доз іонізуючої радіації у проростках, коренях та ростках досліджуваних форм кукурудзи;

- дослідити активність ферменту антиоксидантної системи при дії малих доз опромінення і вbredних та гібридних форм кукурудзи;
- провести вивчення стану системи глутатіону та антиоксидантної системи досліджуваних форм кукурудзи в польових умовах.

Теоретична і практична цінність роботи: 1) отримані результати та їх узагальнення доповнюють і розширюють уявлення про дію одноразових та фракціонованих доз іонізуючої радіації на біологічні об'єкти; 2) вміст відновленого глутатіону може служити показником реакції-відповіді різних за рівнем гетерозиготності рослин лише при дії одноразового опромінення; 3) запропонована в дисертації модифікація методик визначення активностей глутатіон-S-трансферази, глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази та вмісту відновленого глутатіону на рослинних об'єктах використовується в роботі науково-дослідних лабораторій, на лабораторному практикумі для студентів кафедри біохімії і експериментальної екології Чернівецького державного університету.

Наукова новизна. Вперше встановлено, що з усіх досліджуваних біохімічних показників специфічним для оцінки чутливості різних за рівнем гетерозиготності рослин кукурудзи до впливу одноразового опромінення є вміст відновленого глутатіону.

Протонему моху *Funaria hygrometrica* Hedw. використано як біотест для екотоксичної оцінки забрудненості іонами металів. Встановлено, що з усіх досліджуваних іонів металів (алюмінію, нікелю, кадмію, стронцію) найбільш істотно на кількість і ріст клітин хлорономи впливали іони кадмію; опромінення одноразовими дозами призводило до більш виражених змін, ніж дія відповідними фракціонованими дозами, причому мінімальні досліджувані дози істотноше впливали на ризоїди, ніж на хлороному моху.

Положення, що виносяться на захист, 1. Більш виражений вплив одноразового опромінення на відміну від фракціонованого та найвища токсичність кадмію в ряду досліджуваних металів ($Cd > Pb > Ni > Sr$) виявлено на модельній системі з протопемою моху *Funaria hygrometrica* Hedw.

2. Різна чутливість захисних систем відмічена у гібридних та інбредних форми кукурудзи при дії іонізуючої радіації, показником якої є рівень вмісту відновленого глутатіону.

Особистий внесок в отримання наукових результатів, що виносяться на захист. Досліджено вплив іонів Al^{3+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Sr^{2+} та одноразового і фракціонованого рентгенівського опромінення на темп клітинного поділу та інші морфологічні показники протопеми моху *Funaria hygrometrica* Hedw.; за модифікованими методиками визначено вміст GSH та активність ферментів ГП, Г-S-T, СОД; проведено вивчення морфологічних показників в лабораторних та натурних умовах.

Апробація роботи. Результати роботи були викладені на Міжнародній науковій конференції "Навколишнє середовище і здоров'я" (Чернівці, 1993); Міжнародному симпозіумі "Медико-екологічні проблеми охорони здоров'я в Україні" (Чернівці, 1994); науковій конференції співробітників та студентів, присвяченій 120-річчю заснування Чернівецького університету (Чернівці, 1995); 23-ій конференції FEBS (Базель, 1995). Матеріали дисертації апробовані на засіданнях Чернівецького відділення Українського наукового біохімічного товариства (1994, 1995).

Публікації. Основний зміст дисертаційної роботи викладений в 8 наукових працях.

Структура і об'єм роботи. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, методичної частини, результатів досліджень та

їх обговорення, висновків і списку літератури (243 джерела, з яких 131 - іноземні). Робота викладена на 173 сторінках, має 54 таблиці та 28 рисунків.

Методи досліджень

Об'єкти досліджень та їх характеристика. В роботі тест-об'єктом для вивчення впливу іонів металів та характеру опромінення (одноразове та фракціоноване) обрали зелений мох *Funaria hygrometrica* Hedw. Для дослідження функціонування захисних систем вищих квіткових рослин (антиоксидантної та системи глутатіону) при дії екзогенних факторів використовували різні за рівнем гетерозиготності форми кукурудзи, а саме: інбредні лінії кукурудзи 102, 346, 502 та гібриди Піонер 3978, Г 0, Г 2.

1. Вивчення морфологічних показників протонеми моху

Протонему моху вирощували в чашках Петрі на стерильному мінеральному середовищі Кнопа II (Kofler, 1969) з додаванням 1 % сахарози і 0,8 % агару.

Метали вносили в поживне середовище перед стерилізацією у вигляді рідчинів солей: нітрату алюмінію ($4 \cdot 10^{-9}$ - $2 \cdot 10^{-3}$ М), нітрату кадмію ($4 \cdot 10^{-10}$ - $2 \cdot 10^{-3}$ М), нітрату нікелю ($8 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-3}$ М), нітрату стронцію ($6 \cdot 10^{-8}$ - $2 \cdot 10^{-1}$ М).

Одноразове опромінення спор проводили перед висіванням. Фракціонованому впливу додатково підлягали вегетуючі дернинки моху. Опромінення проводили рентгенівським діагностичним апаратом 12П6 з потужністю 1 Р/с. Одноразово спори опромінювали дозами $2,6 \cdot 10^{-4}$, $7,7 \cdot 10^{-4}$, $1,3 \cdot 10^{-3}$, $1,8 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг. В іншій серії використовували фракціоновані дози ($2,6 \cdot 10^{-4} + 5,5 \cdot 10^{-4}$ + $1,3 \cdot 10^{-3}$), ($7,7 \cdot 10^{-4} + 1,3 \cdot 10^{-3}$) Кл/кг.

Спостереження за проростанням спор і ростом протонеми проводили з третьої по шосту добу включно з моменту посіву спор та поживне середовище. Визначали: довжину хлоронемної і ризоїдальної ниток, клітин хлоронемної пилки і відгалужень першого (I) порядку, а також кількість клітин і відгалужень першого порядку, відсоток проростання.

2. Вивчення впливу екзогенних факторів на захисні системи інбредних та гібридних форм кукурудзи

Вміст відновленого глутатіону (GSH) і активність досліджуваних ферментів (глутатіон-S-трансферази, глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази) визначали в динаміці через 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 години від початку пророщування (0 годин) в проростках, коренях і етіолованих ростках кукурудзи в контрольних умовах та при дії екзогенних факторів. Досліди проводили в лабораторних умовах. Опромінення насіння рентгенівськими променями проводили після 12 годин проростання одноразовою дозою $2,6 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг. Для іншої серії експериментів використовували $9 \cdot 10^{-9}$ М розчин $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Вміст відновленого глутатіону в рослинних об'єктах визначали титраційним методом [Травина, 1955], результати виражали в мкМ відновленого глутатіону в 1 г сирої маси.

Активність ферментів глутатіон-S-трансферази і глутатіонпероксидази визначали за методами Мещипена (1989, 1985) і виражали в нМ відновленого глутатіону в 1 мг білку за 1 хв. Вміст білку визначали за методом Лоупі [Lowry, 1958].

Активність супероксиддисмутази визначали методом Fried (1975), Nashikimi (1972) за ступенем інгібування процесу відновлення нітро-синього тетразолію в присутності НАДН. За

одиницю активності приймали 50%-не гальмування процесу відновлення нітро-синього тетразолію за 1 хв інкубації. Активність ензиму виражали в одиницях на 1 мг білку.

Отримані експериментальні дані обробляли методом варіаційної статистики [Маслов, 1978].

Основний зміст роботи

1. Вплив іонів металів і рентгенівських променів на морфологічні показники *Funaria hygrometrica* Hedw.

В ролі біологічного індикатора, який чутливо реагує на несприятливі зміни середовища і дозволяє вивчати стап довкілья, в багатьох дослідженнях використовували листовий мох *Funaria hygrometrica* Hedw. [Демків та інші, 1977, 1992]. В серії досліджень вивчали вплив наявності іонів металів в поживному середовищі і одноразового та фракціонованого опромінення на морфологічні показники вегетуючих дериннок фунарії вологомірної.

Згідно з поставленим завданням були встановлені мінімальні концентрації (які не викликали видимих морфологічних змін) досліджуваних металів: алюмінію - $4 \cdot 10^{-9}$ М; кадмію - $4 \cdot 10^{-10}$ М; нікелю - $8 \cdot 10^{-7}$ М; стронцію - $6 \cdot 10^{-8}$ М, та максимальні (які призводили до 100 %-го відмирання спор) концентрації: алюмінію - $2 \cdot 10^{-3}$ М; кадмію - $2 \cdot 10^{-5}$ М; нікелю - $8 \cdot 10^{-3}$ М; стронцію - $2 \cdot 10^{-1}$ М.

При порівнянні впливу різних солей на кількість та довжину клітин хлоронеми, як одного із найважливіших показників, що відображає темп клітинних поділів, з контрольними величинами помічено, що в концентрації $4,0 \cdot 10^{-8}$ М з усіх досліджуваних солей на дані показники (Рис. 1) впливав лише нітрат кадмію. Його дія призводила як до зменшення кількості клітин (на 19,1 %) на 5-у добу з дня висівання спор, так і до сповільнення їх росту (на

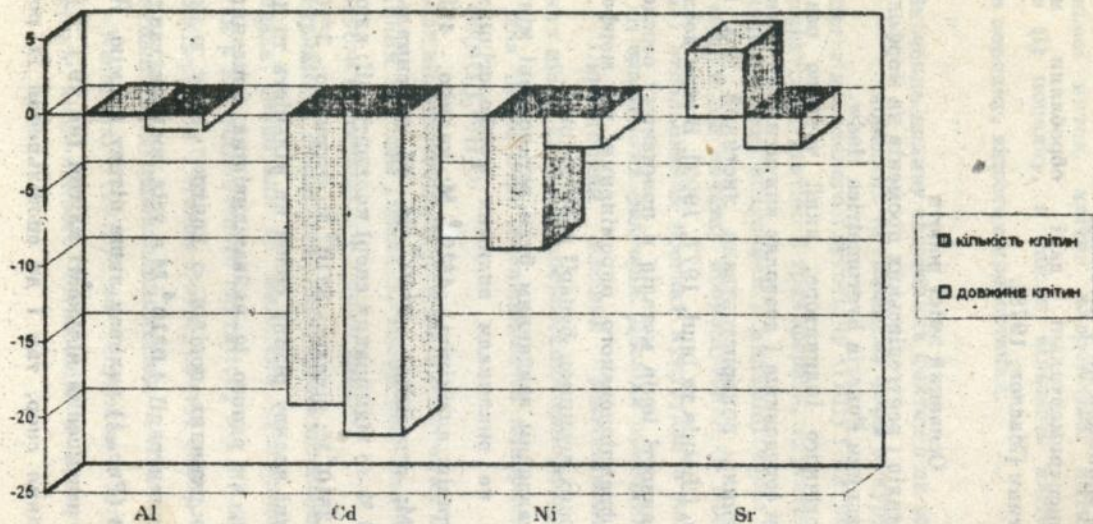


Рис. 1. Кількість і довжина клітин хлорономи моху *Furla hygrometrica* Hedw., вирощених на поживному середовищі з додаванням солей нітратів в концентраціях $4 \cdot 10^{-6}$ М (контроль прийнято за 0%)

14,6%), що, в свою чергу, вело до зменшення загальної довжини хлоронеми. При дії іонів інших досліджуваних металів відмінності від контролю не були достовірними ($p > 0,05$).

Підсумовуючи отримані результати, можна зазначити, що найбільшу біологічну активність з усіх досліджуваних металів проявили іони кадмію, найменшу - іони стронцію. В однакових концентраціях ($4 \cdot 10^{-6}$ М) металів в поживному середовищі характерним для впливу іонів алюмінію є зменшення відсотку проростання на 12,6%, гальмування росту хлоронеми на 27,4% і відгалужень I порядку на 28,9%; нікелю - гальмування росту хлоронеми (на 20,2 і 30,1%) і стимулювання росту ризоїда на 3, 4 добу після висівання спор на поживне середовище (на 50,1 і 27,6%); кадмію - зменшення відсотку проростання на 16,8%, зменшення довжини клітин на 21,1%, і як наслідок, довжини хлоронеми на 39,6%, відгалужень I порядку на 59,4%, ризоїдів на 30,2%, зменшення кількості клітин на 19,1%, утворення відгалужень I порядку на 39,3%; стронцію - стимулювання утворення відгалужень I порядку на 19,6% і їх росту на 14,4%. Відмічено більш високу чутливість ризоїдів до змін концентрацій металів в поживному середовищі на відміну від хлоронеми.

Отже, токсична дія металів залежить від їх природи та концентрації в середовищі. За рівнем токсичності досліджені метали формують такий ряд: кадмій > алюміній=нікель > стронцій. Концентрація нітрату кадмію $9 \cdot 10^{-9}$ М в поживному середовищі призводила до зменшення кількості клітин на 5-у добу росту протонеми.

Виходячи з отриманих результатів наступної серії експериментів можна сказати, що *Funaria hygrometrica* Hedw. є радіо-біологічно чутливим об'єктом. Опромінення спор моху перед

висіванням одноразовою дозою $1,3 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг призводило до збільшення кількості відгалужень першого порядку, тоді як за дії інших одноразових та всіх фракціонованих доз їх кількість не змінювалась. Довжина відгалужень I порядку при дії $2,6 \cdot 10^{-4}$ і $7,7 \cdot 10^{-4}$ Кл/кг та $(7,7 \cdot 10^{-4} + 1,3 \cdot 10^{-3})$ Кл/кг менша за контрольну, в інших випадках істотно не відрізнялась від контрольної довжини. Доза $(7,7 \cdot 10^{-4} + 1,3 \cdot 10^{-3})$ Кл/кг збільшувала довжину ризоїда на 57,4, 40,7, 18,0 та 16,8 % на 3 - 6 добу росту дершинок відповідно.

Майже всі досліджувані малі одноразові та фракціоновані дози радіації суттєво не впливали як на кількість, так і на довжину клітин, лише одноразова доза $1,8 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг дещо стимулювала темп клітинного поділу (на 12 %). Доза $1,3 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг призводила до збільшення відгалужень першого порядку; мінімальні досліджувані дози опромінення, як одноразові так і фракціоновані, стимулювали ріст ризоїдів протягом всього експерименту. Отже, одноразове опромінення спор призводить до більш значних змін, на відміну від фракціонованого.

2. Стан системи глутатіону рослин кукурудзи при дії іонів кадмію

Баууючись на результатах, отриманих в дослідях з протонеомою моху *Funaria hygrometrica* Hedw., для серії експериментів по вивченню впливу іонів металів на систему глутатіону (активність глутатіон-S-трансферази та вміст відновленого глутатіону) обрано нітрат кадмію.

Одним із основних завдань даної роботи було вивчення впливу іонів кадмію на активність захисної системи глутатіону, а саме вмісту відновленого глутатіону, активність глутатіонзалежних ферментів (зокрема глутатіон-S-трансферази) в проростках, коренях та етиольованих ростках досліджуваних форм кукурудзи.

Результати експериментів показали, що першими зреагували на вплив іонів кадмію зростанням активності ферменту проростки гібриду Г 2 на 12 год і лінії 102 на 36 год, у всіх інших форм пік активності спостерігали на 60 год з початку пророщування насіння.

У зміні активності глутатіон-S-трансферази в коренях і 72-годинних ростках всіх досліджуваних форм кукурудзи при дії іонів кадмію певних закономірностей не спостерігали.

Водночас з визначенням активності ферменту глутатіон-S-трансферази визначали і вміст відновленого глутатіону, як ключового елементу досліджуваної захисної системи [Alscher, 1989, Meister, 1983], оскільки глутатіонтрансферази - родина мультифункціональних білків, які використовують GSH для метаболізму гідрофобних речовин [Колесниченко, 1989].

Визначаючи вміст GSH в проростках кукурудзи, вирощених на $9 \cdot 10^{-9}$ М розчині нітрату кадмію, лише в інтервалі 60-72 год відмічено зменшення вмісту даного показника у досліджуваних ліній 102 і 346 та гібридів Піонер і Г 0; у гібриду Г 2 - переважання над контрольними значеннями; у лінії 502 відмінностей від контролю не виявлено. У гібридних форм на 60 год з початку пророщування насіння при зростанні активності глутатіон-S-трансферази відмічено зменшення вмісту відновленого глутатіону.

В досліджуваних коренях як лінійних, так і гібридних форм кукурудзи певних закономірностей в зміні вмісту GSH не знайдено.

Отже, гібридні форми кукурудзи, на відміну від лінійних, реагують взаємопов'язаними змінами активності глутатіон-S-трансферази і вмісту відновленого глутатіону на 60 год проростання.

3. Вплив одноразового рентгенівського опромінення на стан захисних систем кукурудзи в лабораторних умовах

В подальших дослідженнях вивчали вплив одноразового опромінення на активність ферментів глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази та вміст відновленого глутатіону, як одного з найважливіших ендогенних антиоксидантів.

Підсумовуючи результати експериментів по визначенню вмісту GSH після одноразового опромінення дозою $2,6 \cdot 10^3$ Кл/кг на проміжку часу 48-60 год у проростках і коренях лінійних форм відмічено зменшення його вмісту. Через 72 год, з початку пророщування насіння, в проростках, коренях і ростках лінійних форм відмінності вмісту GSH від контрольних значень були вірогідними. З досліджених гібридних форм лише в проростках і ростках гібриду Піонер в цей період відмічено незначне зменшення концентрації GSH відносно контролю (Рис. 2, 3).

Поряд з цим визначали активність глутатіонпероксидази і встановили, що в усіх досліджуваних частинах рослин інбредних та гібридних форм кукурудзи на всьому досліджуваному проміжку часу ніяких закономірностей змін активності ферменту не виявлено.

В результаті дослідження активності супероксиддисмутази - одного із ферментів антиоксидантної системи в проростках опромінених лінійних та гібридних форм кукурудзи значні зміни відповідно до контролю відмічено в інтервалі 24-60 год. Однак на 72 год лише у проростках лінії 346 активність ферменту була вищою від контрольної.

Отже, з усіх досліджуваних біохімічних показників (активність глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази, вміст відновленого глутатіону) лише вміст GSH є показником відповіді різних за

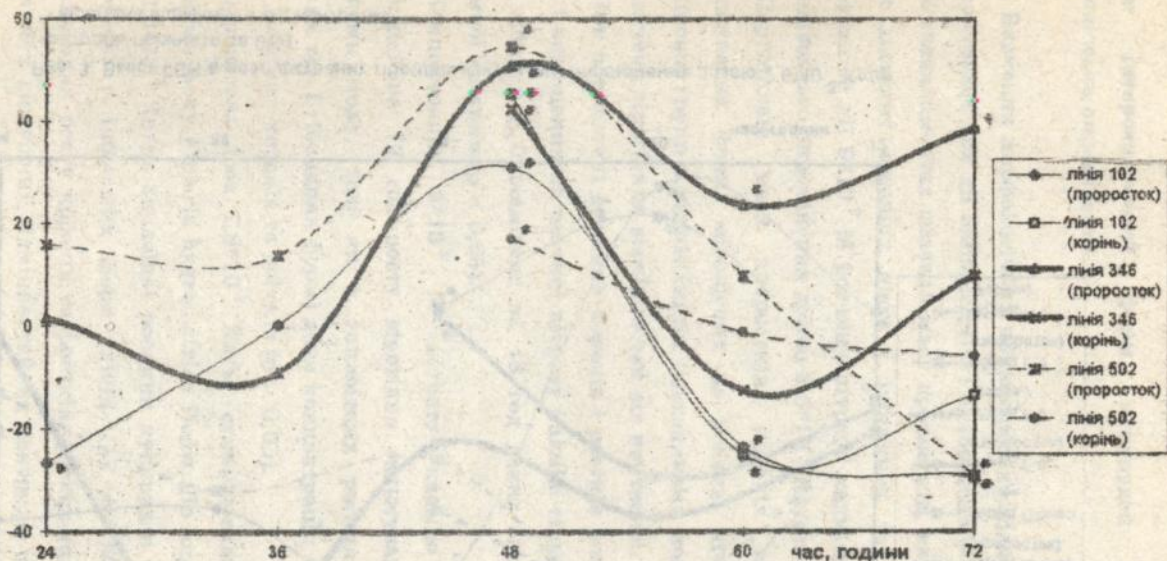


Рис. 2. Вміст ГSH в досліджуваних лініях кукурудзи, опромінених дозою $2,6 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг (контроль прийнято за 0%).
* - вірогідна відмінність від контролю

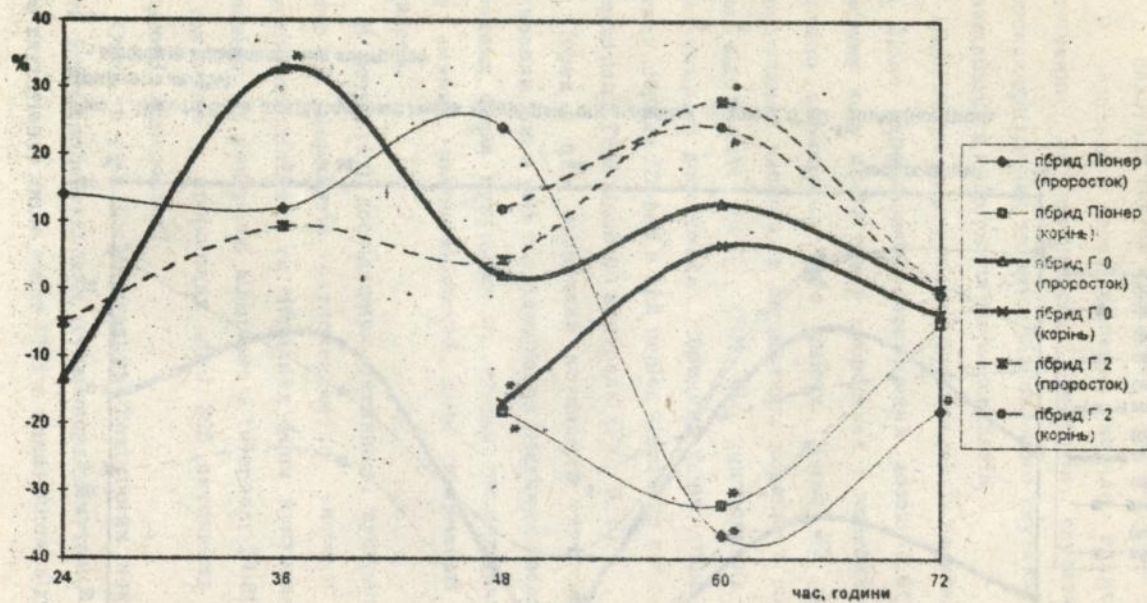


Рис. 3. Вміст GSH в досліджуваних гібридах кукурудзи, опромінених дозою $2,6 \cdot 10^{-3}$ КГ/кг (контроль прийнято за 0%)

* - вірогідна відмінність від контролю

рівнем гетерозиготності форм кукурудзи на одноразове рентгенівське опромінення.

4. Вивчення морфологічних показників досліджуваних форм кукурудзи при дії іонів кадмію і одноразового опромінення

В експериментах вивчали масу проростків, коренів і ростків, а також довжину останніх двох у інбредних та гібридних форм кукурудзи за дії $9 \cdot 10^{-9}$ М розчину нітрату кадмію та одноразового рентгенівського опромінення дозою $2,6 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг.

Порівнявши маси проростків, коренів та ростків усіх досліджуваних форм, вирощених на розчині нітрату кадмію та опроміненої групи з відповідними показниками контрольної групи, не відмічено вірогідних відмінностей від контролю.

При порівнянні довжини коренів і ростків рослин контрольної групи і вирощених на розчині нітрату кадмію тільки у рослин лінії 502 і гібриду Г 0 відмічене на 48 год деяке сповільнення росту надземної частини ($p < 0,05$).

Концентрація $9 \cdot 10^{-9}$ М нітрату кадмію в поживному середовищі на 72 год росту вірогідно гальмувала ріст ризоїдів протонеми моху, тоді як у гаплоїдних рослин кукурудзи (як лінійних так і гібридних форм) дана концентрація не призводила до зміни довжини коренів та ростків ($p > 0,05$).

Одноразова доза $1,8 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг стимулювала ріст ризоїда і хлоронеми моху *Funaria hygrometrica* Hedw. До впливу одноразової дози $2,6 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг диплоїдні рослини кукурудзи проявляли різну чутливість: у інбредних форм (лінії 102 та 502) спостерігали стимулювання росту коренів та ростків, у гібридних форм по цим показникам вірогідних відмінностей від контролю не було (Рис. 4).

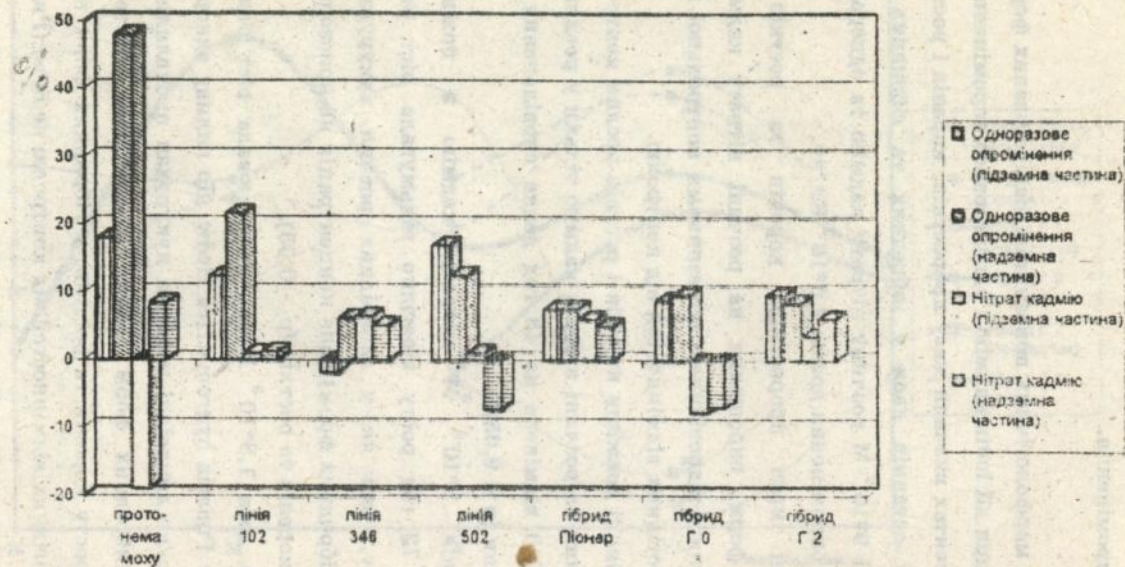


Рис. 4. Довжина надземної та підземної частин протонеми моху та рослин кукурудзи (на 72 год.) зази одноразовому ретгенівському опроміненні та вирощених на середовищі з нітратом кадмієм ($5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) (контроль прийнято за 0%).

Отже, іони кадмію не призводять до видимих морфологічних змін як у лінійних, так і у гібридних форм кукурудзи, тоді як до дії одноразового рентгенівського опромінення, як більш складного фактору впливу, на відміну від інтоксикації важкими металами, гібридні форми проявляють більшу стійкість.

5. Польові дослідження

В польових дослідах визначали біохімічні і морфологічні показники івбредних та гібридних форм кукурудзи всіх експериментальних груп. Використовували ті ж форми кукурудзи, що і для лабораторних досліджень.

Результати 2-річних польових експериментів показали, що передпосівне одноразове рентгенівське опромінення насіння викликало вірогідні зміни різної направленості вмісту ГН в листках 18-добових рослин кукурудзи, активність ГН і СОД у гібридів і ліній, відповідно, не відрізнялась вірогідно від контролю.

При передпосівній обробці розчином кадмію та в поєднаній дії з опроміненням відхилення активності Г-8-Т у всіх форм від контролю були різними.

На довжину надземної частини 18-добових рослин опромінення діяло стимулююче, іони кадмію не проявляли однозначної дії, тоді як при сумісній дії кадмію та опромінення - відмінностей від контрольних значень не було.

Після висадження опроміненого насіння при зборі урожаю певних закономірностей в зміні маси початків не виявлено, при дії кадмію лише у гібриду Піонер відмічено підвищення їх середньої маси, тоді як у рослин 3 групи лише у лінії 102 спостерігали зменшення маси початків.

Висновки

1. Досліджені метали в біотесті для оцінки їх екоотоксичності формують такий ряд: кадмій > алюміній > нікель > стронцій. Концентрація $9 \cdot 10^{-9}$ М нітрату кадмію в поживному середовищі зменшувала кількість клітин на 5-у добу росту протонеми моху *Funaria hygrometrica* Hedw.

2. Серед одноразових ($2,6 \cdot 10^{-4}$, $7,7 \cdot 10^{-4}$, $1,3 \cdot 10^{-3}$, $1,8 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг) і фракціонованих ($(2,6 \cdot 10^{-4} + 5,5 \cdot 10^{-4})$, $(2,6 \cdot 10^{-4} + 1,3 \cdot 10^{-3})$, $(7,7 \cdot 10^{-4} + 1,3 \cdot 10^{-3})$ Кл/кг) доз рентгенівського опромінення лише при дії одноразової дози $1,8 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг спостерігали вірогідне збільшення довжини хлоронеми моху *F. hygrometrica* Hedw. і кількості клітин на 5-у добу росту протонеми.

3. У проростках кукурудзи, вирощених на $9,0 \cdot 10^{-9}$ М розчині нітрату кадмію, встановлено вірогідне зростання активності глутатіон-S-трансферази над контрольними величинами у лінійних форм через 36 і 60 год з початку пророщування насіння, а у гібридів лише на 60 год. У проростках лінійних форм вірогідне перевищення вмісту GSH відмічено в більш ранні години онтогенезу (12, 24, 60 год) на відміну від гібридних форм (48 і 72 год).

4. Чутливість захисних систем до дії одноразового рентгенівського опромінення дозою $2,6 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг у гібридних та міжвидових форм кукурудзи різна. Серед усіх вивчених біохімічних показників (активність ГШ, СОД, вміст GSH) лише вміст відновленого глутатіону у 72-годинних етильованих проростках, коренях і ростках гібридних форм кукурудзи вірогідно не відрізнявся від контролю.

5. Передпосівна обробка насіння досліджених форм кукурудзи 0,1 мМ розчином нітрату кадмію, одноразовою дозою $7,7 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг та їх сумісна дія викликали вірогідні зміни актив-

ностей Г-8-Т, ГП, СОД та вмісту Г8Н в листках 18-добових рослин, не проявляючи при цьому певних закономірностей. При сумісній дії розчину нітрату кадмію та одноразового опромінення довжина надземної частини 18-добових рослин як інбредних, так і гібридних форм не відрізнялась від контрольних величин.

Список опублікованих праць за темою дисертації

1. Блошко М.М., Лаврін Т.В., Юркова О.Д. Вміст відновленого глутатіону та окремих ферментів глутатіонової системи в кукурудзі// Тези доп. Міжн. наук. конф. "Навколишнє середовище і здоров'я". - Чернівці.- 1993.- С.121.
2. Оплачко Л.Т., Лукашук О.Б., Платонова А.А., Блошко М.М. Вивчення біологічної дії деяких регіональних токсикантів в модельній системі з протонеюмою моху *Funaria hygrometrica* Hedw.// Тези доп. Міжн. наук. конф. "Навколишнє середовище і здоров'я". - Чернівці.- 1993.- С.161.
3. Блошко М.М., Юркова О.Д., Стефаник В.В. Дія γ -опромінення на морфологічні показники протонеми моху *Funaria hygrometrica* Hedw.// Матеріали міжн. симп. "Медико-екологічні проблеми охорони здоров'я в Україні". - Чернівці.- 1994.- С.14-15.
4. Oplachko L., Bloshko M. and Marchenko M. Study of biological effect of metal and low dose of irradiation// Abstracts of 23rd Meeting of the Federation of European Biochemical Societies, 1995, Basel, Switzerland. - 1995.- P. 154.
5. Блошко М.М., Марченко М.М. Вплив екзогенних факторів на ріст і розвиток рослин// Матеріали наук. конф. викладачів, співробітників та студентів, присвяченої 120-річчю заснування Чернівецького університету, Т. 3, 1995 р., Чернівці.- 1995.- С. 6.

6. Блошко М.М., Марченко М.М. Дія малих доз рентгенівського випромінювання на морфологічні показники протонеми моху *Funaria hygrometrica* Hedw. // Физиология и биохимия культурных растений.- 1995.- № 5-6. - С. 406-408.
7. Блошко М.М., Кучерявий М.В. Стан глутатионової системи за дії іонів кадмію та етонію у рослин кукурудзи, різних за генотипом// Матеріали симпозіуму "Синтез, експериментальне вивчення та клінічне застосування четвертинних амонієвих сполук". - Чернівці.- 1995.- С. 7.
8. Марченко М.М., Блошко М.М., Костишин С.С. Дія малих доз γ-опромінення на стан глутатионової системи кукурудзи (*Zea mays* L.)// Укр. биохим журн.- 1996.- Т. 68, №2. - С.94-98.

Блошко М.М. Исследование защитных систем у растений при действии ионов кадмия и ионизирующей радиации. Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 - биохимия. Черновицкий государственный университет им. Ю.Федьковича, Черновцы, 1996 год.

Защищается 8 научных работ, которые содержат результаты экспериментальных исследований. Представлены комплексные исследования влияния ионов металлов (алюминия, никеля, кадмия, стронция), а также однократных ($2,6 \cdot 10^{-4}$, $7,7 \cdot 10^{-4}$, $1,3 \cdot 10^{-3}$, $1,8 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг) и фракционированных ($(2,6 \cdot 10^{-4} + 5,5 \cdot 10^{-4})$, $(2,6 \cdot 10^{-4} + 1,3 \cdot 10^{-3})$, $(7,7 \cdot 10^{-4} + 1,3 \cdot 10^{-3})$ Кл/кг) малых доз рентгеновского облучения на морфологические показатели протонемы мха *Funaria hygrometrica* Hedw. Установлено, что наиболее значительное влияние на количество клеток (5-е сутки роста) хлоронемы оказывали ионы кадмия и однократное облучение в дозе $1,8 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг.

Изучено влияние ионов кадмия и одноразового рентгеновского облучения на защитные системы (глутатионовую и СОД) и некоторые морфологические показатели инбредных и гибридных форм кукурузы. Действие ионов кадмия привело к достоверным изменениям активности глутатион-S-трансферазы и содержания восстановленного глутатиона не проявляя зависимости от уровня гетерозиготности растений кукурузы. Среди исследованных биохимических показателей при одноразовом облучении дозой $2,6 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг (активность глутатиопероксидазы, супероксиддисмутаза, содержание восстановленного глутатиона) только у гибридных форм содержание ГSH в 72-часовых этиолированных проростках и ростках не отличалось от контроля.

Maryna M. Bloszko. Investigation of plant protective systems under influence of cadmium ions and ionizing irradiation.

A dissertation submitted for the degree of Candidate of Biological Sciences, specialization 03.00.04 - Biochemistry, Chernivtsi State University, Chernivtsi, 1996.

Eight scientific publications are defended, containing the results of experimental research, presenting complex investigations on the influence of metal ions (aluminium, nickel, cadmium, strontium), including single ($2,6 \cdot 10^{-4}$, $7,7 \cdot 10^{-4}$, $1,3 \cdot 10^{-3}$, $1,3 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг) and fractionated ($(2,6 \cdot 10^{-4} + 5,5 \cdot 10^{-4})$, $(2,6 \cdot 10^{-4} + 1,3 \cdot 10^{-3})$, $(7,7 \cdot 10^{-4} + 1,3 \cdot 10^{-3})$ Кл/кг) small doses of x-ray irradiation on moss protonema *Funaria hygrometrica* Hedw. morphological indexes.

Cadmium ions and single irradiation in the dose of $1,8 \cdot 10^{-3}$ Кл/кг have proved to influence most considerably on the quantity of chloronema cells (after 120 hours of growth).

The influence of cadmium ions and single x-ray irradiation on protective (glutathione and SOD) system and some morphological indexes of inbred and hybrid *Zea mays* L. forms has been studied. The action of cadmium ions has led to the true changes in activity of glutathione-S-transferase and the content of reduced glutathione irrespectively of the level of heterozygosis of *Zea mays* (L.).

Among the analysed biochemical indexes under single $2,6 \cdot 10^{-3}$ K1/kg irradiation doses (glutathione-peroxidase activity, superoxide dismutase, the content of reduced glutathione), the content of GSH in 72-hour etiolated sprouts did not differ from control solely in hybrid forms.

Ключові слова: кукурудза, протонема моху, важкі метали, рентгенівське опромінення, відновлений глутатіон.

M. Gajl

Издательство "Литературная Россия"
Москва, ул. Мясницкая, д. 24
Тел. 251-11-11

Издательство "Литературная Россия"
Москва, ул. Мясницкая, д. 24

The influence of cadmium and lead ions on the growth of
certain (mushrooms and 500) species and some biological
processes of other and hybrid Zee-mosses L. forms has been studied. The
series of experiments have led to the final change in activity of
glutathione-S-transferase and the content of reduced glutathione
independently of the level of heavy metals of Zee-mosses (1977).

Among the analyzed chemical indexes under stress
of 1977 20-year-old plants have demonstrated a
markedly decrease in the content of reduced glutathione. The content
of GSH in 20-year old plants did not differ from control values
in hybrid forms.

Кадмій і свинець впливають на ріст деяких видів
грибів і деяких біологічних процесів у деяких
форм мшистої рослинності, зокрема зміниє вміст
редукованого глутатіону.

Підписано до друку 25.03.96
Формат 60 x 84/16.
Папір друкарський. Друк офсетний.
Ум. друк. арк. 1,3. Обл.-вид. арк. 1,4.
Зам. 075. Тираж 100 прим.

Друкарня видавництва "Рута" Чернівецького держуніверситету
274012, Чернівці, вул. Коцюбинського, 2

AB 34.413