

*Наталія РЕЧЕВСЬКА, Олександра ХОРКАВЦІВ, Софія МАЄВСЬКА*

## **ПРОТЕКТОРНА ДІЯ СВІТЛА НА ТОКСИЧНИЙ ВПЛИВ КАДМІЮ НА ПРИКЛАДІ ПРОТОНЕМИ МОХУ *FUNARIA HYGROMETRICA* HEDW.**

*Досліджено вплив світла на токсичну дію кадмію у процесі росту протонемі моху *F. hygrometrica*. Показано, що світло послаблює токсичну дію кадмію і знижує міру вираженості хлорозу. Виявлено, що поєднаний вплив інтенсивного освітлення та високих концентрацій кадмію призводить до зростання концентрації білка в апікальних та субапікальних клітинах протонемі, а також до втрати внутрішньоклітинного апікально-базального розподілу білка, що може свідчити про зміну функціональної активності клітин та перебудову метаболізму в напрямі адаптації до дії кадмію.*

Техногенні забруднювачі довкілля, ураховуючи важкі метали, діють на рослинні організми як біохемічні агенти, що порушують ультрамікроскопічні структури клітин, фізіологічні процеси і метаболізм рослин, а через них — ростові та формотворчі процеси. Мохи, незважаючи на невеликі розміри, є потужними сорбентами важких металів і здатні поглинати їх безпосередньо з повітря, опадів та вологи ґрунту. Вивчення реакції мохів на токсичну дію важких металів має на меті не лише пошук адекватних індикаторів забруднення, а й дослідження шляхів послаблення токсичного впливу полутантів на рослинний організм.

Первинна реакція організму на дію важкого металу характеризується швидкою іммобілізацією неспецифічних захисних систем, які забезпечують збереження життєздатності та перебудову метаболізму. Однією з таких систем є синтез білка. Тому доцільно припустити, що посилення синтезу білків може зменшити токсичний ефект важкого металу. Одним із важливих морфогенетичних чинників, який активує метаболічні процеси в рослинних клітинах, є світло.

Поглинута рослинами світлова енергія використовується не лише в реакціях фотосинтезу, але також бере участь у регуляції численних процесів росту і розвитку рослин — регулюванні активності фітогормонів, зміні функціональної активності мембран та реалізації програм синтезу ряду ферментів та білків. Встановлено стимулюючий вплив світла на біосинтез білків та активність нітратредуктази в сої [7], на вміст хлорофілу та білків у паростках овочевих культур [8], а також виявлено 6

білків з молекулярними масами 66, 44, 30, 29 та 23 кД, що синтезуються у пагонах томатів під впливом зростання інтенсивності освітлення [9].

Наша наукова розвідка має на меті вивчення ролі світлової інтенсифікації внутрішньоклітинного метаболізму на зниження токсичності кадмію у протонеми моху *Funaria hygrometrica* Hedw.

**Методика досліджень.** Для біохемічних аналізів використовували 8-денну протонему листостеблового моху *Funaria hygrometrica* Hedw. Протонему вирощували зі спор на агаризованому середовищі Кноп-II [1] під впливом різних інтенсивностей світла 1, 2 та 3 тис. лк, у контрольованих умовах температури 20—25 °С, і вологості 95—98 %. На 4 добу росту протонему у стерильних умовах переносили на середовища, що містили розчин хлористого кадмію у концентрації 0,01—10,0 мкв. кмоль/л і надалі продовжували вирощувати під впливом різної інтенсивності світла. Контролем служили середовища, що не містили іонів кадмію.

Не порушуючи стерильності, довжину протонеми визначали в чашках Петрі на 7 день після посіву. Вміст білка у протонемі визначали за методом Лоурі [10].

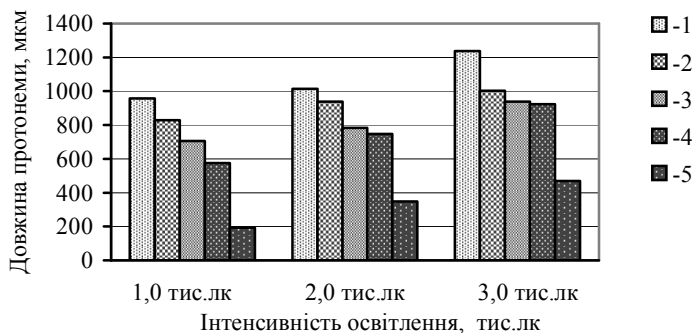
Вміст загальних цитоплазматичних білків вимірювали у фіксованому матеріалі, використовуючи для фіксації суміш ФОС (70 % етанол : льодова оцтова кислота : 40 % формальдегід у співвідношенні 85:5:10). Для вимивання з клітин нуклеїнових кислот протонему витримували 15 хв. у 15-відсотковому розчині трихлороцтової кислоти на киплячій водянній бані. Загальні білки фарбували 0,1 % розчином тривкого зеленого FCF (рН 2,2) упродовж 24 год [3]. Зафарбовані препаратри тричі промивали дистильованою водою, поміщали у гліцериновий гель і фотометрували при  $\lambda=635$  нм.

**Результати досліджень та їх обговорення.** На світлі протонема *F. hygrometrica* наростає верхівкою апікальної клітини, за рахунок поділів якої та галуження інтеркалярних клітин формується дернинка. Із зростанням інтенсивності освітлення (від 1 до 3 тис. лк) спостерігалось пропорційне зростання швидкості росту протонеми (рис. 1). Така тенденція була характерна як для контрольних зразків (що росли на середовищі без металу), так і для зразків, що зазнавали дії кадмію.

Порівнюючи ріст протонеми на різних середовищах під впливом освітлення від 1 до 3 тис. лк встановлено зростання швидкості росту протонеми в контрольному середовищі у 1,2 рази ( $t_d=11,1$ ), на середовищі із вмістом кадмію 0,1 мкв. кмоль/л у 1,3 рази ( $t_d=9,1$ ), на середовищі із вмістом кадмію 1,0 мкв. кмоль/л у 1,5 рази ( $t_d=14,9$ ). Для підтвердження нашої гіпотези про те, що при зростанні інтенсивності світла може частково послаблюватися токсичний ефект кадмію, у дослідях було проаналізовано взаємовплив світла та летальної концентрації важкого металу — 10 мкв. кмоль/л.

Унаслідок перенесення 4-добової протонеми, що росла на світлі різної інтенсивності, на середовище з 10 мкв. кмоль/л концентрацією металу виявилось, що після 3 діб експозиції на середовищі з важким металом ріст протонеми в умовах освітлення 1 тис. лк цілком припинявся, тобто довжина протонеми на 7 добу росту відповідала розмірам 4-добової протонеми. Крім того, спостерігався хлороз (утрата хлорофілу), що є одним із симптомів токсикозу кадмію. Із зростанням

освітлення ростові показники поступово змінювалися. Під впливом світла 2 тис. лк довжина протонеми зростала в 1,8 раза ( $t_d=8,5$ ) проти попереднього варіанту, а під впливом освітлення 3 тис. лк розміри протонеми зростали майже у 2,4 раза ( $t_d=15,3$ ) й, водночас, змен-



шувалися ознаки хлорозу, що може безпосередньо бути зумовлене дією світла на фотосинтетичний апарат [6].

Рис. 1. Взаємовплив світла та кадмію на швидкість росту протонеми моху *F. hygrometrica*: 1 — 5 концентрації хлориду кадмію (1 — контроль (без кадмію); 2 — 0,01 мкв. кмоль/л; 3 — 0,1 мкв. кмоль/л; 4 — 1,0 мкв. кмоль/л; 5 — 10,0 мкв. кмоль/л).

Для докладнішого пояснення одержаних результатів ми проаналізували вплив світла різної інтенсивності на вміст білка у протонемі, вирощеній на середовищах із кадмієм. Встановлено стимулюючий вплив світла на вміст білка в контрольних зразках (рис. 2).

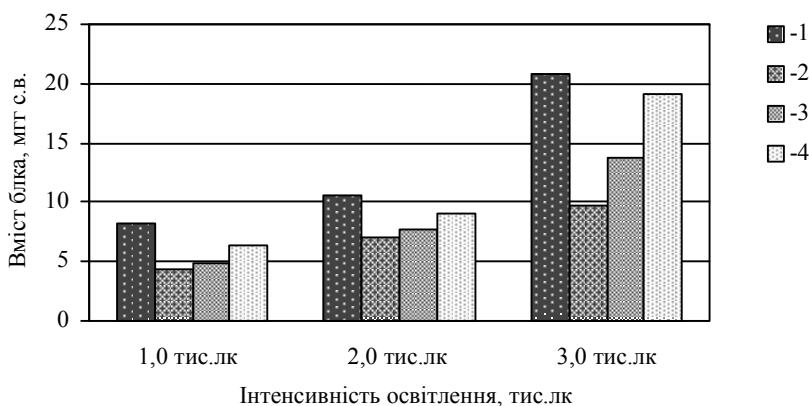


Рис. 2. Вплив інтенсивності освітлення на вміст білка у протонемі моху *Funaria hygrometrica* Hedw., що росла на середовищах із концентрацією кадмію: 1 — контроль; 2 — 0,01 мкв. кмоль/л; 3 — 0,1 мкв. кмоль/л; 4 — 1,0 мкв. кмоль/л.

Під впливом освітлення 3 тис. лк концентрація білка у протонемі підвищувалася майже у 2,5 раза порівняно з освітленням 1 тис. лк. У випадку порівняння зразків, що росли на середовищах із кадмієм, спостерігалася тенденція зростання вмісту білка із збільшенням концентрації важкого металу в субстраті, причому із зростанням інтенсивності освітлення (2 та 3 тис. лк) вміст білка у протонемі, що росла на середовищі з концентрацією кадмію 1 мкв. кмоль/л, наближався до контрольного варіанту.

Поряд із вивченням кількісних змін білка на рівні протонемі, важливе значення має встановлення його внутрішньоклітинного вмісту та розподілу. Аналіз вмісту білка в апікальних та субапікальних клітинах протонемі, яка росла на середовищах без кадмію, показав, що клітини протонемі суттєво відрізняються за розподілом білка (рис. 3). Максимальна концентрація білка встановлена в апікальних клітинах, які активно ростуть. Крім того, тут встановлювався апікально-базальний градієнт концентрації. У субапікальних клітинах вміст білка зменшувався та спостерігалася втрата градієнтного розподілу. Із зростанням інтенсивності освітлення до 3 тис. лк концентрація білка у верхівці апікальної клітини зростала майже у 1,3 раза, порівняно з освітленням 1 тис. лк, та апікально-базальний розподіл ставав чіткішим.

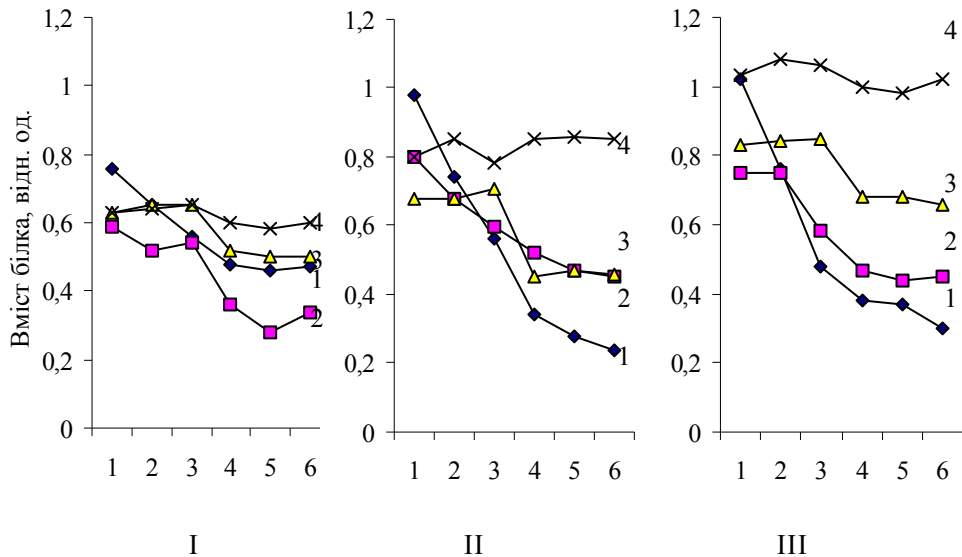


Рис. 3. Взаємовплив світла та кадмію на концентрацію білка у верхівкових клітинах протонемі моху *F. hygrometrica*: 1—4 — концентрації хлориду кадмію, мкв. кмоль/л (1 — контроль (без кадмію), 2 — 0,01, 3 — 0,1, 4 — 1,0).

Порівнюючи зразки, які експонувалися на середовищах із кадмієм, ми встановили, що під впливом кадмію у концентрації 0,01 мкв. кмоль/л

апикально-базальний характер розподілу в апікальних клітинах ще зберігався, хоча він ставав менш вираженим. Концентрації кадмію 0,1 та 1 мкв. кмоль/л індукували зростання концентрації білка як в апікальних, так і в субапікальних клітинах. Паралельно простежувався спад крутизни апікально-базального градієнту.

Збільшення інтенсивності світла сприяло підвищенню внутрішньоклітинної концентрації білка у протонемі, що росла на середовищах із важким металом. Найкраще такий стимулюючий ефект проявлявся під впливом світла інтенсивністю 3 тис. лк та концентрацією важкого металу 1 мкв. кмоль/л. У цьому випадку концентрація білка в апікальній клітині зростала майже у 2 рази, порівняно із впливом освітлення 1 тис. лк, та досягала рівня апікальної клітини контрольного зразка. Водночас спостерігалось підвищення вмісту білка в субапікальних клітинах (майже до рівня апікальних клітин).

Попередніми нашими дослідженнями встановлено, що реакцією моху *F. hygrometrica* на присутність кадмію у субстраті було підвищення загального вмісту білка та індукція високомолекулярної білкової фракції (~270 кД), якій ми відводили роль металхелатуючої сполуки [2]. Поряд із цим, встановлені зміни і на рівні ферментативних систем естерази та пероксидази. Ферменти реагували на токсичний вплив кадмію розширенням спектра множинних молекулярних форм. У пероксидаз виявлено нову фракцію з молекулярною масою ~60 кД, а у спектрі естераз з'явилися 2 нові форми з молекулярними масами в межах від 29 до 40 кД. Стає очевидним той факт, що активація метаболічних процесів у клітинах, у тому числі і біосинтезу білків, послаблювала токсичний ефект, спричинений дією важкого металу.

У зв'язку з цим, ми застосували у своїх експериментах дію світла різної інтенсивності, як фактора, що має здатність підсилювати чи перемикати механізми ендогенного регулювання [4]. Аналіз швидкості росту протонемі продемонстрував протекторну дію світла на вплив кадмію. Підтвердженням цих результатів стали зміни білкового вмісту у протонемі моху. Поряд із загальним підвищенням рівня білка під впливом наростаючих інтенсивностей освітлення 2—3 тис. лк, важливе значення мав і розподіл його внутрішньоклітинної концентрації. Дія світла в умовах токсичного впливу кадмію сприяла зростанню концентрації білка як в апікальній, так і ще більшою мірою, у субапікальній клітинах, причому, розподіл білка втрачав градієнтний характер, властивий апікальній клітині. Це свідчить про зміну функціональної активності клітин та перебудову метаболізму, які можна розглядати як формування адаптації рослини до несприятливого фактора.

Наведені результати свідчать про важливу роль світла у підсиленні захисних систем рослинного організму у випадку дії кадмію.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Демків О.Т., Сьтник К.М. Морфогенез архегоніат. К.: Наук. думка, 1985. 204 с.

2. Демків О.Т., Речевська Н.Я. Сумісний вплив свинцю та кадмію на розвиток моху *Funaria hygrometrica* Hedw. // Проблеми ботаніки і мікології на порозі третього тисячоліття: Матер. X з'їзду Укр. ботан. товариства (Полтава, 22–23 травня 1997 р.). К., 1997. С. 126—127.

3. Дженсен У. Ботаническая гистохимия. М.: Мир. 1965. 377 с.

4. Курсанов А.Л., Воскресенская Н.П. Фоторегуляция метаболизма и морфогенез растений. М.: Наука. 1975. С. 3—4.

5. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: Издво МГУ. 1970. 366 с.

6. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. — Л.: Издво Лен. унта. 1991. 240 с.

7. Barro F., Naba P., Maldonado J.M., Fontes A.G. Effects of light quality on growth, contents of carbohydrates, proteins and pigments and nitrate reductase activity in soybean plants // J. Plant Physiol. 1989. 134. № 5. P. 586—591.

8. Gruenzweig J., Katan J. Physiological aspects of increased growth response of plants in solarized soils // Phytoparasitica. 1993. 21. № 2. P. 147.

9. Davies H., Jordan B., Harwood J. Changes in acyllipid, protein and chlorophyll content of lettuce and tomato chloroplasts during acclimation to changes in irradiance // Plant Physiol. and Biochem. 1991. 29. № 3. P. 281—288.

10. Lowry O.A., Rosenbrough N.J., Farr A.I., Randal R.I. Protein measurement with Folin phenol reagent Lowry O.A. // J. Biol. Chem. 1951. 193. № 1. P. 265—275.

#### SUMMARY

Nataliya RECHEVSKA, Olexandra KHORKAVTICIV, Sofiya MAYEVSKA

#### PROTECTIVE ACTION OF LIGHT AGAINST THE TOXIC EFFECT OF CADMIUM IN THE PROTONEMA OF THE MOSS FUNARIA HYGROMETRICA HEDW

The Influence of light against the toxic effect of cadmium has been studied in the moss *Funaria hygrometrica* protonema. In cadmium contained medium the growth rate of protonemata and the total content of proteins in their cells increase under the effect of intensive lighting. Moreover, the combined action of intensive light and high concentrations of cadmium provoke the increase of protein concentration in the apical and subapical protonema cells and the loss of the gradient of the apical-basal protein intracellular distribution. Probably the change in functional activity of cells and a modification of metabolism are a kind of adaptation to cadmium action.