

УДК 581.1 + 576.3 + 632.95.024

ПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ МЕРИСТЕМНИХ КЛІТИН КОРЕНІВ РОСЛИН ПШЕНИЦІ В УМОВАХ ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Л. Богуславська*, Н. Павлюкова**

Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара **, НДІ біології*
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: m i l b o @ r a m b l e r . r u

Досліджено вплив іонів кадмію, свинцю та нікелю на проліферативну активність клітин коренів апікальної меристеми проростків пшениці. З'ясовано, що токсиканти знижують мітотичну активність, викликають підвищення рівня аберантних клітин і їхню загибель.

Ключові слова: іони, кадмій, свинець, нікель, меристеми, мітотична активність, аберації, хромосоми, пікноз.

Розвиток сучасних технологій у промисловості та сільському господарстві зумовлює інтенсивне зростання вмісту важких металів у навколишньому середовищі. Цей вміст на кілька порядків перевищує фонові природні концентрації [1, 2, 11, 13, 16–18]. Поряд із загальними забруднювачами навколишнього середовища важкими металами (індустріальна діяльність, металургійні заводи, гірничі виробітки, викиди шахт, транспортні магістралі) [9], існує ще одне джерело забруднення важкими металами: це матеріали, які використовуються у сільському господарстві (добрива, пестициди, вапняк) [8, 9]. Найбільш вразливі при дії екстремальних факторів меристеми вищих рослин [3], оскільки вони мають високу чутливість до стресового впливу [4–7, 15]. Поряд із тим, меристеми виконують настільки важливу та унікальну в житті рослин функцію, що будь-якого роду відмови меристем завдають серйозну шкоду розвитку організму [3]. Радіобіологи називають меристеми критичними тканинами, тому що їхня чутливість до радіації в десятки і сотні разів вища від чутливості диференційованих клітин. Стійкість рослин до пошкоджуючих агентів визначається стійкістю меристем [3]. Тому метою нашої роботи було оцінити проліферативну активність меристемних клітин рослин пшениці за умов окремої та сумісної дії іонів свинцю, кадмію і нікелю.

Об'єктом дослідження слугували рослини озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Селянка. Насіння пророщували в затемненому термостаті при +27°C на водопровідній воді. Дводобові проростки для подальшого росту пересаджували на розчини нітратів свинцю, кадмію у концентраціях $2 \cdot 10^{-3}$, $2 \cdot 10^{-4}$, $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л і нікелю у концентраціях $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$ та $3,4 \cdot 10^{-6}$ моль/л і на їхні суміші ($\text{Cd}^{2+} 2 \cdot 10^{-4} + \text{Pb}^{2+} 2 \cdot 10^{-3} + \text{Ni}^{2+} 1 \cdot 10^{-4}$). Відбір меристем проводили через 48, 96 і 144 години проростання на середовищі з іонами важких металів.

Для визначення рівня меристемної активності й рівня аберантних клітин коренів меристеми проростків пшениці фіксували в оцтовому алкоголі (3:1) протягом 18 год при +10°C. Фіксований матеріал промивали в 96% етиловому спирті та зберігали в 70% його розчині. Для цитологічного аналізу матеріал фарбували ацетоорсеїном. Зразки мацерували в HCl та готували тимчасові давлені препарати кореневих кінчиків проростків кукурудзи, як описано [12, 14]. Особливості цитотоксичної дії солей металів оцінювали

за змінами мітотичного індексу, індексу аберацій, відсотків пікнотичних ядер на тимчасових давлених препаратах за Паушевою [12] та Довгалюком [16]. Дані опрацьовували статистично з використанням критерію Стьюдента й однофакторного дисперсійного аналізу [10].

Зміни значень мітотичного індексу меристемних клітин коренів пшениці після обробки іонами свинцю, кадмію та нікелю показали зниження мітотичної активності. Після дії іонів кадмію на корені проростків пшениці від концентрації $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л протягом періоду з 48 по 144 год проростання спостерігали критичне зниження значень мітотичного індексу відповідно на 64,9, 55,8 та 46,6% до контролю. А при дії нітрату кадмію в концентрації $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л, незважаючи на термін росту, на препаратах не вдалося знайти жодної ана- чи телофазної клітини. Серед мітотичних клітин були тільки профазы, а більшість інтерфазних ядер виявилися пікнотичними (табл. 1).

Таблиця 1

Мітотичний індекс клітин коренів пшениці за дії іонів важких металів, %

Варіант обробки, моль/л	Термін проростання, год		
	48	96	144
Контроль	897±42,9	903±45,2	909±44,5
Cd ²⁺ 2×10 ⁻³	311±13,5	200±9,8	181±8,9
Cd ²⁺ 2×10 ⁻⁴	510±21,5	442±20,0	401±18,1
Cd ²⁺ 2×10 ⁻⁵	582±24,1	504±22,2	424±19,2
Pb ²⁺ 2×10 ⁻³	318±14,5	243±12,2	198±8,7
Pb ²⁺ 2×10 ⁻⁴	482±21,0	450±21,5	326±14,3
Pb ²⁺ 2×10 ⁻⁵	543±24,2	529±25,5	371±17,6
Ni ²⁺ 1×10 ⁻⁴	509±23,5	468±21,4	254±10,7
Ni ²⁺ 1×10 ⁻⁵	836±39,8	679±31,0	526±24,3
Ni ²⁺ 3,4×10 ⁻⁶	883±43,2	829±38,5	814±38,0
Cd ²⁺ + Pb ²⁺ + Ni ²⁺	334±14,7	287±11,4	200±8,6

Іони свинцю у великій концентрації $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л з 48 по 144 год росту інгібували проліферативну активність меристемних клітин (мітотичний індекс) на 65–78% аж до повного припинення росту. Та навіть у невеликій концентрації $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л вже на 48 год росту свинець знижує мітотичну активність клітин коренів пшениці на 61% (табл. 1). Як видно з табл. 1, за дії іонів нікелю мітотичний індекс меристематичних клітин коренів пшениці знижується і становить 98% від контролю, індекс аберацій і процент пікнозу зростає.

Проникнення у клітини кореневої меристеми іонів кадмію, свинцю та нікелю призводило до суттєвих цитогенетичних змін. При дії всіх досліджуваних металів відзначалося утворення фрагментів хромосом і хромосомних мостів. На 96 та 144 год проростання індекс аберацій знижувався порівняно до 48 год приблизно у 2 рази. Це явище свідчить про включення у досліджуваних рослин адаптаційних механізмів. Іони кадмію в концентрації $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л на 48 год проростання збільшували частку абераційних ана- і телофаз у меристематичних клітинах коренів пшениці у 3,3 разу щодо контролю. Зі зменшенням концентрації металу – $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л – рівень абераційних клітин знижувався у 2,6 разу порівняно зі середньою концентрацією. При дії іонів кадмію $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л протягом усього терміну пророщування мітотична активність клітин була настільки мала, що на препаратах спостерігалися тільки профазы й інтерфазы. Тому дослідження аберацій у ана- і телофазі було неможливим (табл. 2).

Таблиця 2

Індекс аберацій меристемних клітин коренів пшениці за дії іонів важких металів, %

Варіант обробки, моль/л	Термін проростання, год		
	48	96	144
Контроль	2,3±0,07	3,7±0,04	6,0±0,05
Cd ²⁺ 2×10 ⁻³	-	-	-
Cd ²⁺ 2×10 ⁻⁴	7,6±0,03	11,0±0,02	11,6±0,09
Cd ²⁺ 2×10 ⁻⁵	6,0±0,08	8,0±0,07	10,3±0,04
Pb ²⁺ 2×10 ⁻³	11,6±0,06	13,6±0,06	14,6±0,04
Pb ²⁺ 2×10 ⁻⁴	10,0±0,01	10,6±0,02	12,6±0,02
Pb ²⁺ 2×10 ⁻⁵	5,1±0,03	7,2±0,04	12,3±0,01
Ni ²⁺ 1×10 ⁻⁴	4,3±0,03	8,0±0,07	11,0±0,01
Ni ²⁺ 1×10 ⁻⁵	9,6±0,09	10,3±0,05	12,6±0,06
Ni ²⁺ 3,4×10 ⁻⁶	10,6±0,05	11,3±0,03	14,0±0,09

При дії іонів свинцю на корені пшениці кількість хромосомних мостів і фрагментів хромосом дозозалежно збільшувалася. У концентраціях 2·10⁻³, 2·10⁻⁴, 2·10⁻⁵ моль/л на 48 год пророщування індекс аберацій збільшувався порівняно з контролем у 5, 4 та 2 рази (табл. 2). Вплив нікелю на рівень індексу аберацій дещо більший, ніж у свинцю. При дії концентрації нікелю 1·10⁻⁴ моль/л на 48 год росту індекс аберації збільшувався в 1,9 разу. Ця ж концентрація, окрім хромосомних мостів і фрагментів хромосом, викликала множинні uszkodження хромосом.

Хромосомні аберації показують високу токсичність діючих речовин (Cd, Pb, Ni) і призводять до загибелі клітин. Про смерть клітин також свідчить пікноз ядерного матеріалу, який спостерігався в інтерфазних клітинах. Аналіз відсотка клітин з пікнотичними ядрами на препаратах кінчиків коренів пшениці, передоброблених різними концентраціями кадмію, свинцю, нікелю, дає змогу зробити висновок про ступінь цитотоксичної дії досліджуваних речовин. Зафіксований пікноз ядерного матеріалу свідчить про некроз тканин. Найбільший відсоток пікнотичних клітин спостерігався за сумісної дії іонів кадмію, свинцю та нікелю (табл. 3).

Таблиця 3

Відсоток пікнотичних клітин меристеми коренів пшениці за дії іонів важких металів

Варіант обробки, моль/л	Термін проростання, год		
	48	96	144
Контроль	-	-	-
Cd ²⁺ 2×10 ⁻³	37,9±9,9	58,6±6,1	60,2±5,9
Cd ²⁺ 2×10 ⁻⁴	15,6±1,0	24,5±1,2	33,6±1,5
Cd ²⁺ 2×10 ⁻⁵	11,9±3,3	13,3±0,9	15,4±0,3
Pb ²⁺ 2×10 ⁻³	3,0±1,9	48,8±1,0	50,0±1,2
Pb ²⁺ 2×10 ⁻⁴	6,6±1,4	19,4±1,9	23,6±0,6
Pb ²⁺ 2×10 ⁻⁵	-	0,9±0,08	1,3±0,12
Ni ²⁺ 1×10 ⁻⁴	1,5±0,09	2,8±0,09	2,9±0,08
Ni ²⁺ 1×10 ⁻⁵	0,7±0,01	1,3±0,04	2,9±0,8
Ni ²⁺ 3,4×10 ⁻⁶	-	-	1,1±0,1
Cd ²⁺ + Pb ²⁺ + Ni ²⁺	65,6±1,3	67,5±1,1	69,3±1,0

Аналізуючи зміни індексу аберації та відсоток клітин із пікнотичними ядрами за групою анеугенних порушень, які спостерігались у мітотичних клітинах, встановлено,

що іони важких металів з ростом концентрації незворотно збільшують відсоток аберантних і пікнотичних клітин.

1. *Важенин И. Г.* Корни растений как биоиндикатор уровня загрязненности почвы токсическими элементами // *Агрoхимия*. 1984. № 2. С. 73–77.
2. *Воробець Н. М., Микієвіч І. М.* Сумісна дія свинцю та селену на проростання та ріст соняшника // *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.* 2000. Вип. 26. С. 159–165.
3. *Гродзинский Д. М.* Надежность растительных систем. К.: Наук. думка, 1983. 366 с.
4. *Гудков И. Н., Гродзинский Д. М.* Роль асинхронности клеточных делений и гетерогенности меристемы в радиоустойчивости растений // *Клеточный цикл растений в онтогенезе*. К.: Наук. думка, 1988. С. 110–137.
5. *Довгалюк А. І., Калиняк Т. Б., Блюм Я. Б.* Токсична дія іонів металів на ріст та мітотичну активність клітин коренів цибулі *Allium cepa* L. // *Доп. НАН*. 1998. № 6. С. 173–178.
6. *Довгалюк А. І., Калиняк Т. Б., Блюм Я. Б.* Оценка фито- и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука // *Цитология и генетика*. 2001. № 1. С. 3–9.
7. *Довгалюк А. І., Калиняк Т. Б., Блюм Я. Б.* Цитогенетические эффекты солей токсичных металлов в клетках апикальной меристемы корней проростков *Allium cepa* L. // *Цитология и генетика*. 2001. № 2. С. 3–9.
8. *Кабата-Пендиас А., Пендиас Х.* Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 440 с.
9. *Ковда В. А., Золотарева И. И., Скрипченко И. И.* О биологической реакции растений на тяжелые металлы // *ДАН СССР*. 1979. № 3. С. 665–668.
10. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. М.: Высш.шк., 1990. 352 с.
11. *Обухов А. И., Лобанова Е. А.* Свинец в почвообразующих породах и почвах. Свинец в окружающей среде. М.: Наука, 1987. С. 38–48.
12. *Паушева З. П.* Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. 271 с.
13. *Пинский Д. Л., Орешкин В. Н.* Тяжелые металлы в окружающей среде // *Экспериментальная экология*. 1991. С. 201–213.
14. *Пухальский В. А., Соловьев А. А., Бадаева Е. Д., Юрцев В. Н.* Практикум по цитологии и цитогенетике растений. М.: Колосс, 2007. 198 с.
15. *Романенко А. С., Самеев Р. К.* Электронно-микроскопическое изучение поступления тяжелых металлов в клетки корней растений // *Цитология*. 1978. Вып. 20. № 5. С. 491–495.
16. *Терек К., Терек О. І., Баранов В. І.* Вплив свинцю на ріст і активність АТФаз у рослин кукурудзи // *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.* 2000. Вип. 25. С. 123–128.
17. *Трахтенберг И. М.* Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды // *Довкілля та здоров'я*. 1997. № 2. С. 10–14.
18. *Усманов И. Ю., Рахманкулова З. Ф., Кулагин А. Ю.* Экологическая физиология растений. М.: Логос, 2001. 224 с.

**PROLIFERATION ACTIVITY OF MERISTEM CELLS OF WHEAT ROOTS
UNDER INFLUENCE OF HEAVY METAL IONS****L. Boguslavskaya*, N. Pavlucova*****Oles Gonchar National University of Dnipropetrovsk**
Biological Institute***72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine**e-mail: milbo@rambler.ru*

Effect of cadmium, lead and nickel ions on the apical meristem cells proliferation activity of wheat seedlings was investigated. It has been shown that toxicants inhibit mitotic activity, stimulate number aberrated cells and their death.

Key words: ions, cadmium, lead, nickel, meristem, mitotic activity, aberration, chromosome, pknose.

**ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕРИСТЕМАТИЧЕСКИХ
КЛЕТОК КОРНЕЙ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ
ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ****Л. Богуславская*, Н. Павлюкова*****Днепропетровский национальный университет
имени Олесь Гончара**, НИИ биологии*
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина
e-mail: milbo@rambler.ru*

Исследовано влияние ионов кадмия, свинца и никеля на пролиферативную активность клеток корней апикальной меристемы проростков пшеницы. Установлено, что токсиканты снижают митотическую активность, вызывают повышение уровня абберантных клеток и их гибель.

Ключевые слова: ионы, кадмий, свинец, никель, меристемы, митотическая активность, абберации, хромосомы, пикноз.

Стаття надійшла до редколегії 21.12.09

Надійшла після доопрацювання 19.05.10

Прийнята до друку 20.05.10