

Особливості накопичення іонів свинцю та їх вплив на стан прооксидантно-антиоксидантної системи у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw.

НАТАЛІЯ ЯРОСЛАВІВНА КИЯК

КУЯК N.YA., 2007: **Patterns of Lead Ions Accumulation and their Influence on the State of Preoxidative / Antioxidative System in Shoots of Aquatic Moss *Fontinalis antipyretica* Hedw.** *Chornomorsk. bot. z.*, vol. 3, N1: 56-64.

Patterns of lead ions accumulation and localization, and their influence on the physiological and biochemical parameters in shoots of aquatic moss *Fontinalis antipyretica* are investigated. The ability of *F. antipyretica* to bind lead ions on the surface of leaf plates is revealed. Increase of content of TBA-reactive substances and carbonylproteins is observed in moss under metal treatment. Lead was found to induce an increase of activity of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase with rising the glutathione content.

Key words: lead ions, accumulation, TBA-reactive substances, glutathione, proteins modification, activity of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, Fontinalis antipyretica.

Кияк Н.Я., 2007: **Особливості накопичення іонів свинцю та їх вплив на стан прооксидантно-антиоксидантної системи у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw.** *Чорноморськ. бот. ж.*, т. 3, №1: 56-64.

Досліджено особливості накопичення та локалізації іонів свинцю, а також їх вплив на фізіолого-біохімічні показники у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica*. Виявлено здатність *F. antipyretica* зв'язувати іони свинцю на поверхні листкових пластинок. Встановлено, що свинець індукує зростання вмісту тіобарбітурат-активних продуктів та карбонільних груп білків у клітинах. Відмічено зростання активності основних компонентів антиоксидантної системи – супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та підвищення вмісту відновленого глутатіону.

Ключові слова: іони свинцю, накопичення, тіобарбітурат-активні продукти, відновлений глутатіон, модифікація білків, активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, Fontinalis antipyretica.

Вступ

Мохи є важливим компонентом як наземних, так і водних екосистем. Специфіка анатомо-морфологічної структури, здатність накопичувати іони важких металів та чітка кореляція з їх вмістом у середовищі, а також толерантність до високих концентрацій поллютантів стали передумовою для використання бріофітів як біоіндикаторів забруднення атмосферного та водного середовищ [STEINNES et al., 1994; GLOSCHENKO, 1995; REIMANN et al., 2000; SENCI, 2000; GRODZINSKA et al., 2001]. Ці властивості мохів зумовлюють актуальність вивчення особливостей поглинання та локалізації іонів важких металів у рослинному організмі. Мохи часто використовують як модельні об'єкти для дослідження морфо-фізіологічних та геномних змін, спричинених дією важких металів [BASSI et al., 1995; BARGAGLI, 1998], однак, на сьогоднішній день недостатньо інформації про механізми перебігу окислювального стресу в мохів, індукованого дією цих поллютантів [PANDA, 2003].

Відомо, що вплив свинцю та кадмію призводить до зростання вмісту активних форм кисню (АФК) у рослинному організмі, яке визначають поняттям „вторинний окислювальний стрес” [PANDA, 1997; ТАРАН та ін., 2004]. Унаслідок високої реакційної здатності АФК взаємодіють із різними клітинними компонентами: ліпідами, ініціюючи їх перекисне окислення; ДНК, зумовлюючи точкові мутації та розриви в молекулі; білками, розриваючи пептидні зв'язки та модифікуючи амінокислотні ланцюги [ЛУЩАК та ін., 2004]. Негативній дії АФК в організмі протистоїть антиоксидантна система, функціонування якої спрямоване на попередження утворення вільних радикалів, їх нейтралізацію та репарацію пошкоджень [ПЕСКИН, 1994; ТАРЧЕВСКИЙ, 2002].

Метою роботи було дослідження специфіки накопичення і локалізації іонів свинцю та їх впливу на стан прооксидантно-антиоксидантної системи у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw.

Матеріали та методи дослідження

У дослідах використовували пагони водного моху *F. antipyretica*, які протягом 1 місяця вирощували на водному поживному середовищі Кноп-II із вмістом ацетату свинцю у діапазоні концентрацій 1,0-100,0 мкМ/л. Оскільки токсичність солей металів зумовлюють катіони, а кислотні залишки сполук істотно не впливають на специфіку дії іонів [ДОВГАЛЮК и др., 2001], тому контролю на залишок оцтової кислоти ми не ставили. Рослини вирощували в люмінестаті в контрольованих умовах освітлення (2 500-3 000 лк), температури (20-22 °С) та вологості (85-90 %).

Цитохімічне виявлення іонів свинцю проводили за методом І. Серьогіна та В. Іванова [SEREGIN, IVANOV, 1997], з допомогою дитізону (дифенілтіокарбазону) – високочутливого реагента на іони важких металів. З іонами свинцю дитізон формує нерозчинні солі червоного кольору – дитізонати. На основі якісної реакції оцінювали локалізацію іонів свинцю в листках моху *F. antipyretica*.

Для визначення активності супероксиддисмутази (СОД) рослинний матеріал гомогенізували в 0,15 М фосфатному буфері (рН 7,8) та екстрагували протягом 30 хв. при кімнатній температурі. Супернатант, отриманий після центрифугування (10 хв., 5000 g) додавали до інкубаційного середовища, що містило 0,33 мМ ЕДТА, 0,4 мМ нітросиній тетразолій, 0,01 мМ феназинметсульфат та 0,8 мМ НАДФН. Оптичну густину розчину вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 540 нм. Активність СОД виражали в умовних одиницях на мг білка за хв. [ЧВАРИ и др., 1991].

Активність каталази визначали після екстракції у 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,8). Екстракт центрифугували протягом 15 хв. за 5000 g. Активність фермента визначали у надосадовій рідині спектрофотометрично на основі реакції з 4% розчином молібдату амонію. Активність фермента виражали в мкМ H₂O₂ на мг білка за хв. [КОРОЛЮК и соавт., 1986].

Для визначення активності фермента глутатіонпероксидази (ГП) наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,5) екстрагували протягом 30 хв. за температури +5 °С, та центрифугували протягом 30 хв. за 4000 g. Надосадову рідину використовували в якості ферментного препарату. Реакційна суміш для визначення активності ГП містила: 4,8 мМ відновлений глутатіон, 6 мМ ЕДТА, 12 мМ азид натрію та 14 мМ tВНР (гідропероксид третинного бутілу). Суміш інкубували протягом 30 хв. за температури +25°С. Реакцію зупиняли додаванням холодної 20 % ТХО. Осаджені білки видаляли центрифугуванням за 1500 g протягом 15 хв. Надосадову рідину змішували з 0,1 М трис-НСІ (рН 8,5) і додавали реактив Елмана. Проби фотометрували за довжини хвилі 412 нм. Питому активність фермента виражали в мкМ НАДФН₂ на 1 мг білка за 1 хв. [МОИН, 1986].

Активність глутатіонредуктази (ГР) визначали після екстракції у 0,05 мМ калій-фосфатному буфері (рН 7,0). Екстракт центрифугували протягом 20 хв. за 4000 g.

Реакційна суміш для визначення активності ГР містила: 0,05 мл ферментного препарату, 0,2 М К-фосфатний буфер (рН 7,5), 1 мМ ЕДТА та 2 мМ НАДФН. Реакцію ініціювали додаванням 5 мМ відновленого глутатіону. Проби фотометрували на спектрофотометрі за довжини хвилі 412 нм протягом 4 хв. з періодичністю 30 сек. Питому активність фермента виражали в мкМ НАДФН₂ на 1 г білка за 1 хв. [SMITH et al., 1988].

Для визначення вмісту відновленого глутатіону рослинний матеріал гомогенізували в 5% трихлороцтовій кислоті та центрифугували протягом 15 хв. за 4000 g. Реакційна суміш містила ферментний препарат, 15 мМ ЕДТА, 0,02 % білок яєчного альбуміну, 0,3 мМ 5,5-дитіобіс (2-нітробензойну) кислоту, 50 мМ імідазол та 0,48 од. глутатіонредуктази. Реакцію ініціювали додаванням 0,9 мМ НАДФН. Проби фотометрували за довжини хвилі 412 нм протягом 4 хв. Вміст відновленого глутатіону виражали в мкМ НАДФН₂ на 1 г сирової маси [SMITH et al., 1988].

Для визначення вмісту тіобарбітурат-активних продуктів (ТБК-активних продуктів) рослинний матеріал гомогенізували у 20 % розчині трихлороцтової кислоти та інкубували з 0,5 % розчином тіобарбітурової кислоти на киплячій водяній бані протягом 30 хв. У супернатанті, отриманому після центрифугування, спектрофотометрично визначали вміст ТБК-активних продуктів за довжини хвилі 532 нм. Їх вміст виражали в нМ ТБК-активних продуктів на 1 г сирової маси [МУСИЕНКО и соавт., 2001].

Для визначення вмісту карбонільних груп (КГ) білків наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 50 мМ калій-фосфатному буфері (рН 7,0). Отриманий після центрифугування (10 хв., 5000 g) осад розчиняли у 10 мМ розчині 2,4-динітрофенілгідразину, та інкубували протягом 1 год. при кімнатній температурі. Суміш центрифугували в попередньому режимі, а отриманий осад розчиняли в 6 М гуанідингідрохлориді. Вміст КГ білків визначали у супернатантах спектрофотометрично за довжини хвилі 370 нм, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання 22000 М⁻¹·см⁻¹ [ЛУЦАК та ін., 2004]. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорда [BREDFORD, 1976].

Усі досліді проводили у 3-кратній повторності. Отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу [ПЛОХИНСКИЙ, 1970].

Результати дослідження та їх обговорення

Токсичність важкого металу завжди пов'язана зі специфікою його проникнення та локалізації в рослинному організмі. Застосування цитохімічного експрес-методу дозволило дослідити особливості накопичення іонів свинцю в клітинах листових пластинок водного моху *F. antipyretica*. Унаслідок 1-годинної інкубації рослинного матеріалу у середовищі з металом усі клітини листка були забарвлені у червоний колір (порівняно з контролем), що свідчить про проникнення іонів свинцю у клітини листової пластинки й утворення з дитізоном нерозчинних солей-дитізонатів (рис. 1, А; 1, Б). Відомо, що у *F. antipyretica* майже 50 % поглинутих іонів свинцю зв'язується катіонообмінними сайтами клітинних стінок [PICKERING, PUIA, 1969], і таким чином рослина захищається від надмірного входження важкого металу всередину клітини. Іони свинцю виявляють найвищу спорідненість до карбоксильних груп полігалактуронових кислот, які є в складі клітинної стінки [BROWN, 1984].

При цьому, інтенсивність якісної реакції суттєво залежала від концентрації ацетату свинцю в середовищі. Найінтенсивніша реакція спостерігалася на середовищі з концентрацією 100,0 мкМ/л. На середовищі з концентрацією солі важкого металу 1,0 мкМ/л вона була слабшою.

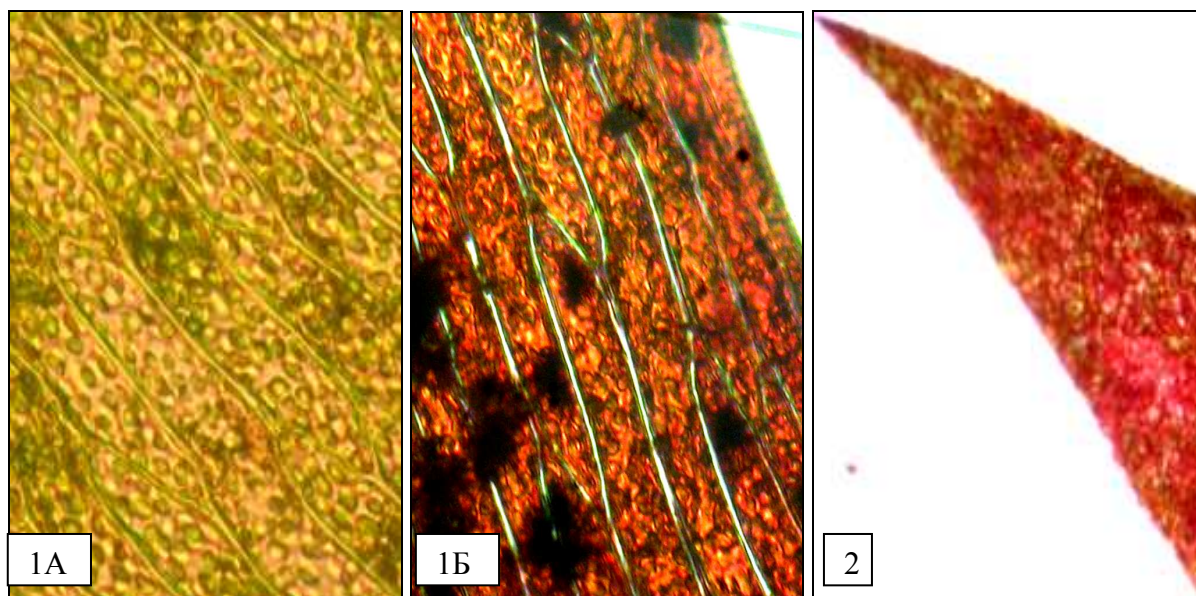


Рис. 1. Фрагмент листкової пластинки *Fontinalis antipyretica* зафарбованої дитізеном: 1А – контрольний варіант (без додавання ацетату свинцю); 1Б – після інкубації у середовищі з 100,0 мкМ/л ацетату свинцю. Зб: 100×.

Fig. 1. Fragment of *Fontinalis antipyretica* leaf plate painted by dithizone: 1A – control variant (without lead acetate); 1B – after incubation in the medium with 100,0 µM/l of lead acetate. 100×.

Рис. 2. Локалізація дитізонатів на поверхні листкової пластинки *Fontinalis antipyretica*. Зб.: 20×.

Fig. 2. Localization of dithizonates on the surface of *Fontinalis antipyretica* leaf plate. 20×.

Специфікою даного виду є те, що поряд із клітинною локалізацією, значна частина іонів свинцю зв'язується на поверхні листкової пластинки. Свідченням цього є наявність великої кількості кристалів конічної форми, які вкривають поверхню листкової пластинки, особливо верхівкову та базальну частини листка, де вони утворюють суцільний покрив (рис. 2). Кристали міцно зв'язані з поверхнею листка і рівень їх дифузії у реакційне середовище є надзвичайно низьким. Із літературних джерел відомо, що такий спосіб захисту мохів від надмірного входження іонів важкого металу є унікальним. Він виявлений у *Fontinalis antipyretica* та *Sphagnum auriculatum*. У цих видів мохів відбувається зв'язування іонів металів на поверхні листків у формі оксидів. Їх осадження відбувається на тих ділянках листкової пластинки, де є найбільший вихід кисню, що утворюється у процесі фотосинтезу, тим самим створюючи умови для окислення металів [SERGIO et al., 1992; SERGIO et al., 2000]. Такий спосіб детоксикації іонів свинцю, очевидно, є одним із механізмів, що забезпечують толерантність водного моху до токсичної дії важких металів.

Токсичний ефект свинцю у рослинному організмі, як правило, пов'язаний з інгібуванням росту, зміною ферментативної активності, хлорозом листків, зниженням фотосинтетичної активності та ініціюванням окислювального стресу у клітинах [PANDA et al., 2003; SHOUDHURY, PANDA, 2004]. Для оцінки окислювального стресу використовують різноманітні показники – вміст пероксидів ліпідів та продуктів їхнього метаболізму, карбонільних груп білків і низькомолекулярного антиоксиданту глутатіону [HALLIWELL, GUTTERIGE, 1989].

Дезінтеграція біомембран через перекисне окислення ліпідів є одним із найзагальніших механізмів стрес-індукованої відповіді організму на дію кисневих радикалів. У пагонах *F. antipyretica* ми дослідили вплив свинцю на вміст ТБК-активних продуктів, які слугують показником перекисного окислення ліпідів у клітинах

[CLEMENS, 2001]. З'ясувалося, що в умовах свинцевого стресу відбувається пропорційне зростання вмісту цих сполук відповідно до підвищення концентрації солі металу у поживному середовищі (рис. 3, А). Під впливом найнижчої концентрації ацетату свинцю 1,0 мкМ/л рівень окислювальних процесів у клітинах водного моху залишався досить стабільним, свідченням чого є вміст ТБК-активних продуктів, який суттєво не відрізнявся від контролю. На вищих концентраціях ацетату свинцю 10,0-100,0 мкМ/л вміст цього показника зростав майже в 1,3 рази.

Якщо визначення вмісту ТБК-активних продуктів як показника окислювального стресу досить поширене, то дослідження рівня окисленості білків ще не набуло широкого застосування, передусім на рослинних об'єктах. Досить детально вивченою модифікацією білкових молекул за дії АФК є утворення додаткових карбонільних груп у бічних ланцюгах амінокислот [STADTMAN, BERLETT, 1999]. У наших дослідях із *F. antipyretica* виявлено зростання вмісту карбонільних груп білків прямопропорційно до підвищення концентрації важкого металу у середовищі. Під впливом найвищої концентрації металу відбувалося зростання вмісту показника окисленості білків майже удвічі (рис. 3, Б). Як бачимо, за дії іонів свинцю суттєво підвищувався як рівень ПОЛ, так і рівень окислення білків у пагонах *F. antipyretica*, та простежувалася чітка залежність цих процесів від концентрації металу в середовищі. Отримані результати свідчать про індукцію окислювального стресу в рослинах під впливом іонів свинцю.

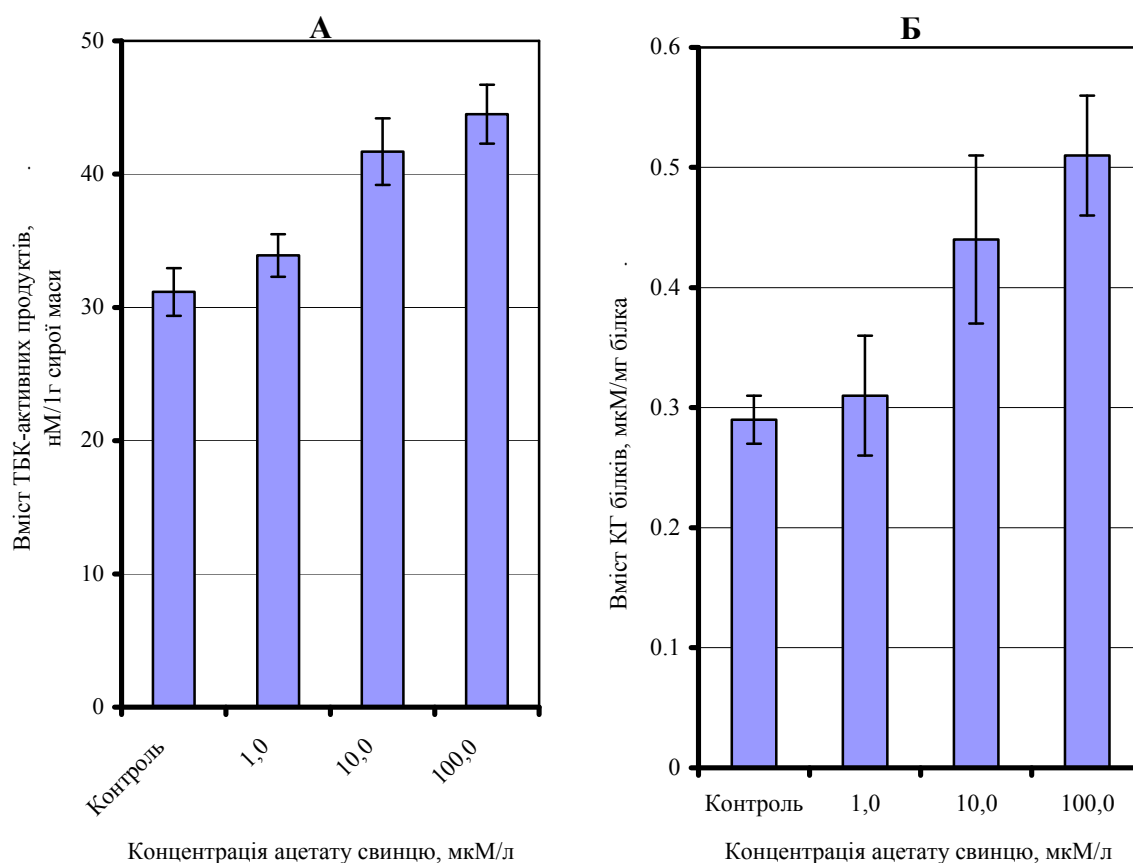


Рис. 3. Вплив свинцю на вміст ТБК-активних продуктів (А) та вміст карбонільних груп (КГ) білків (Б) у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica*.

Fig. 3. Influence of lead on the content of TBA-reactive substances (A) and carbonylproteins (B) in the shoots of aquatic moss *Fontinalis antipyretica*.

У наших дослідках було проаналізовано також часову динаміку накопичення КГ білків. Для створення окислювального стресу *in vitro* використовували сублетальну концентрацію ацетату свинцю (100,0 мкМ/л). У результаті інкубування рослинного гомогенату у середовищі з важким металом встановлено, що зростання вмісту КГ білків відбувалося відразу з початком інкубації. На 15 хвилину інкубації їх вміст зростав у 2,3 рази, а через 45 хвилин інкубації – рівень КГ білків підвищувався утричі, порівняно з контролем (рис. 4).

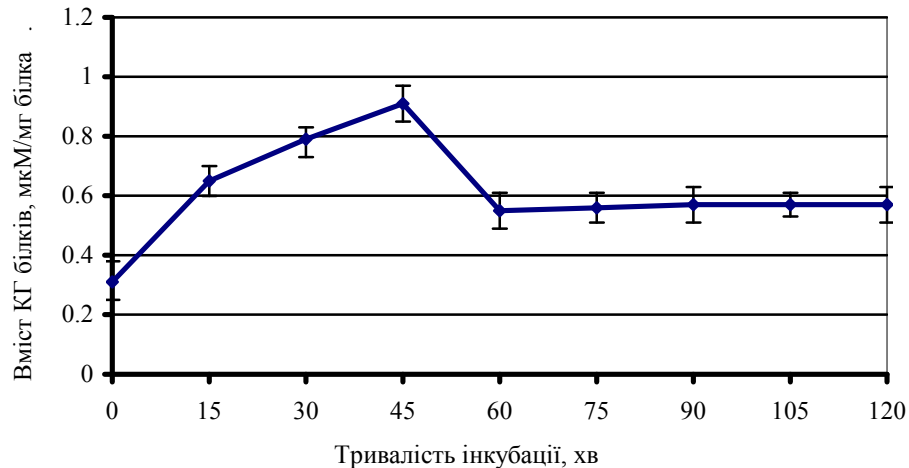


Рис. 4. Вплив тривалості інкубації рослинного гомогенату у розчині ацетату свинцю у концентрації 100,0 мкМ/л на вміст карбонільних груп білків у пагонах *Fontinalis antipyretica*.

Fig. 4. Influence of duration of plant homogenate incubation in the solution with 100,0 $\mu\text{M/l}$ lead acetate on the content of carbonylproteins in *Fontinalis antipyretica* shoots.

Далі на 1 та 2 годину тривалості дослідку відбувався досить різкий спад вмісту КГ і крива досягала певного стабільного рівня. Очевидно, протягом перших 45 хвилин реакції активність прооксидантної системи істотно перевищувала активність компонентів антиоксидантної системи. Після 1 години дослідку відбувалося значне пригнічення та стабілізація процесу окислювання білків, очевидно за рахунок інтенсифікації антиоксидантних реакцій. Ці результати свідчать про те, що вміст КГ у білках є показником окислювального стресу та його дії на ступінь окисленості білків. Крім того, заслуговує на увагу наявність незмінного рівня цього параметра протягом другої половини дослідку, що може свідчити про існування певного антиоксидантного потенціалу у *F. antipyretica*.

Важливим регулятором перекисного окислення ліпідів у клітині є багатокомпонентна антиоксидантна система, що представлена ферментами та низькомолекулярними сполуками. Зміни в активності деяких антиоксидантних ензимів представлені у таблиці 1. У наших дослідках проаналізовано вплив ацетату свинцю на активність фермента супероксиддисмутази (СОД), що каталізує реакцію дисмутації супероксидного радикалу O_2^- до молекулярного кисню та пероксиду водню, забезпечуючи первинний внутрішньоклітинний захист в умовах окислювального стресу [BOWLER et al., 1994]. Виявлено суттєве зростання (майже у 5 разів, порівняно з контролем) активності цього фермента у пагонах *F. antipyretica* під впливом ацетату свинцю у концентраціях 10,0-100,0 мкМ/л.

Пероксид водню, який у підвищених концентраціях утворюється в умовах стресу, знешкоджується ферментом каталазою. У пагонах *F. antipyretica* рівень активності цього ферменту також суттєво зростав (майже в 1,5 рази) під впливом свинцю у концентраціях 10,0-100,0 мкМ/л (табл. 1). На середовищі з концентрацією

солі свинцю 1,0 мкМ/л каталазна активність наближалася до відповідного показника контролю.

В умовах окислювального стресу важливу захисну роль відіграє і глутатіон-залежна антиоксидантна система. Аналіз вмісту відновленого глутатіону у пагонах *F. antipyretica* показав, що зі збільшенням концентрації солі важкого металу в середовищі, спостерігалось поступове зростання вмісту відновленої форми цієї сполуки (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив ацетату свинцю на активність основних компонентів захисної антиоксидантної системи у пагонах моху *Fontinalis antipyretica*

Table 1

Influence of lead acetate on the activity of basis components of protective antioxidant system in the moss shoots *Fontinalis antipyretica*

№ п/п	Концентрація ацетату свинцю, мкМ/л	Активність СОД, відносні одиниці/ мг білка/хв	Активність каталази, мкМ Н ₂ О ₂ /мг білка/хв	Вміст відновл. глутатіону, мкМ НАДФН ₂ /г сирової маси	Активність глутатіонпероксидази, мкМ НАДФН ₂ /мг білка/хв	Активність глутатіонредуктази, мкМ НАДФН ₂ / мг білка/хв
1	Контроль	62,5±0,5	0,88±0,05	112,5±5,6	108,6±8,5	97,2±6,5
2	1,0	81,4±0,7*	0,93±0,04	85,0±2,1	76,8±5,9*	79,5±4,2
3	10,0	317,2±12,5*	1,29±0,08*	125,0±5,3*	246,1±18,2*	118,9±10,2*
4	100,0	296,3±13,2*	1,40±0,06*	162,5±7,2*	220,5±15,5*	145,6±12,8*

Примітка: * – різниця порівняно до контролю статистично достовірна при $p < 0,05$.

Особливо чітко це простежувалося у випадку дії найвищої концентрації оцтовокислого свинцю – 100,0 мкМ/л. Істотне зростання вмісту цього основного компонента антиоксидантної системи можна пояснити поліфункціональністю його дії в умовах стресу. Відновлений глутатіон – це попередник фітохелатинів, які зв'язують іони важких металів, хоча відомо, що у *F. antipyretica* функцію хелатора іонів металів у клітинах здійснюють саме молекули відновленого глутатіону [BRUNS et al., 2001], що підвищує значимість цієї сполуки для водного моху. Крім того, це субстрат для глутатіонзалежних трансфераз та пероксидаз, а також важливий окисно-відновний буфер клітини, який захищає сульфгідрильні групи ферментів від дії різноманітних полютантів [ALSCHER, 1989].

У наших дослідах свинець індукував значне підвищення активності глутатіонпероксидази, яка бере участь у редукції цитотоксичних ліпопероксидів, що утворюються в результаті окислювального стресу [FOYER et al., 1997]. У *F. antipyretica* відмічено зростання активності цього фермента майже у 2,5 рази під впливом 10,0-100,0 мкМ/л концентрацій ацетату свинцю (табл. 1).

Постійне підтримання пулу відновленого глутатіону в клітині забезпечується глутатіонредуктазною активністю. Глутатіонредуктазі надають функцію „сервісного” фермента, оскільки вона забезпечує нормальне функціонування усіх компонентів глутатіон-залежної антиоксидантної системи. У пагонах *F. antipyretica* активність цього фермента зростала прямопропорційно до підвищення концентрації іонів металу у поживному середовищі (табл. 1). Так, виявлено збільшення активності глутатіонредуктази майже у 1,5 рази під впливом максимальної концентрації оцтовокислого свинцю.

Отже, очевидно, що робота антиоксидантної системи підтримує стаціонарний фізіологічний рівень вільнорадикальних процесів у клітині. Таким чином, у наших дослідженнях із використанням водного моху *F. antipyretica* встановлені зростання показників антиоксидантної системи захисту свідчать про важливу роль цієї системи у регулюванні окислювального стресу, зумовленого дією іонів свинцю.

Висновки

На підставі проведеного дослідження встановлено, що водний мох *Fontinalis antipyretica* здатний чутливо реагувати на вплив іонів свинцю. Найтоксичнішими виявилися концентрації ацетату свинцю 10,0 та 100,0 мкМ/л.

Досліджено специфіку накопичення іонів свинцю у клітинах листової пластинки *F. antipyretica*. Іони металу накопичуються у клітинах листка, однак значна їх частина локалізується на поверхні листової пластинки, що є важливим захисним механізмом від надмірного входження металу у клітини.

Встановлено, що іони свинцю індукують окислювальний стрес у клітинах водного моху *F. antipyretica*, який супроводжується зростанням вмісту ТБК-активних продуктів (показника перекисного окислення ліпідів) та вмісту карбонільних груп білків (показника окисленості білків).

Проаналізовано вплив свинцю на активність ферментів, що визначають антиоксидантний статус рослинного організму. В умовах дії іонів свинцю у пагонах *F. antipyretica* встановлено зростання активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази, а також виявлено істотне підвищення вмісту низькомолекулярного антиоксиданту – відновленого глутатіону. Висока функціональна активність основних компонентів антиоксидантної системи є важливим захисним механізмом, який сприяє підвищенню толерантності водного моху *F. antipyretica* до дії важких металів.

Список літератури

- ДОВГАЛЮК А.И., КАЛИНЯК Т.Б., БЛЮМ Я.Б. Оценка фито- и цитотоксической активности солей металлов с помощью корневой апикальной меристемы лука // Цитология и генетика. – 2001. – № 1. – С. 3-9.
- КОРОЛЮК М.А., ИВАНОВА Л.И., МАЙОРОВА И.Г., ТОКАРЕВ В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1986. – № 1. – С. 16-20.
- ЛУЩАК В.І., БАГНЮКОВА Т.В., ЛУЩАК О.В. Показники окислювального стресу. 1. Тіобарбітуратактивні продукти і карбонільні групи білків // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 71., № 5. – С. 112-117.
- МОИН В.М. Простой и специфический метод для определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лабораторное дело. – 1985. – № 12. – С. 724-726.
- МУСИЕНКО М.М., ПАРШИКОВА Т.В., СЛАВНЫЙ П.С. Спектрофотометрические методы в практике физиологии, биохимии и экологии растений. – К.: Фитосоциоцентр, 2001. – 200 с.
- ПЕСКИН А.В., СТОЛЯРОВ С.Д. Окислительный стресс как критерий оценки окружающей среды // Изв. АН СССР. Сер.: Биология. – 1994. – С. 588-595.
- ПЛОХИНСКИЙ Н.А. Биометрия. – М.: Изд-во МГУ, 1970. – 367 с.
- ТАРАН Н.Ю., ОКАНЕНКО Л.М., БАЦМАНОВА Л.М., МУСИЕНКО М.М. Вторинний оксидний стрес як елемент загальної адаптивної відповіді рослин на дію несприятливих факторів довкілля // Физиол. и биохим. культ. раст. – 2004. – Т. 36, № 1. – С. 3-14.
- ТАРЧЕВСКИЙ И.А. Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, 2002. – 292 с.
- ЧВАРИ С., АНДЯЛ Т., ШТРЕНГЕР Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело. – 1991. – № 3. – С. 95-99.
- ALSCHER R.G. Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants // Physiologia Plantarum. – 1989. – N 77. – P. 457-464.
- BARGAGLI R. Mosses as passive and active biomonitors of trace elements // Trace Elements in Terrestrial Plants. / Ed. Bargagli R. – Springer-Verlag, Berlin. – 1998. – P.207-236.
- BASSI P. Effect of lead on nuclear repetitive DNA of the moss *Funaria hygrometrica* (Funariales) // Ann. Bot. – 1995. – N 87. – P. 537-534.
- BOWLER C., VAN MONTAGU M., INZE D. Superoxide dismutase and stress tolerance // Annual Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1994. – N 43. – P. 83-116.
- BREDFORD W. A simple method for protein test // Annal. Biochem. – 1976. – N 72. – P. 248-252.
- BROWN D. H. Uptake of mineral elements and their use in pollution monitoring / In A. F. Dyer and G. Duckett (eds.): The experimental biology of bryophytes. – New York: Academic Press, 1984. – P. 247-258.
- BRUNS I., SUTTER K., MENGE S., NEUMANN D. Cadmium lets increase the glutathione pool in bryophytes // Journal of Plant Physiology. – 2001. – N 158. – P. 79-89.
- CENCI R.M. The use of aquatic moss (*Fontinalis antipyretica*) as monitor of contamination in standing and running waters: limits and advantages // J. Limnol. – 2000. – N 60 (Suppl. 1). – P. 53-61.

- CHOUDHURY S., PANDA S.K. Induction of oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Taxithelium nepalense* (Schwaegr.) Broth. under lead and arsenic phytotoxicity // Current Science. – 2004. – Vol. 87, N 3. – P. 342-346.
- CLEMENS S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis // Planta. – 2001. – N 212. – P. 475-486.
- FOYER C.H., LELANDIS M., GALAP C., KUNERT K.J. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanism of acclimatory stress tolerance and signaling // Physiologia Plantarum. – 1997. – N 100. – P. 241-254.
- GLOSCHENKO A.A. *Sphagnum fuscum* moss as an indicator of atmospheric cadmium deposition across Canada // Environ. Pollut. – 1995. – N 57. – P. 23-33.
- GRODZINSKA K., SZAREK-LUKASHEVSKA G. Response of mosses to the heavy metal deposition in Poland – an overview // Environ. Pollut. – 2001. – Vol. 114, N 3. – P. 443-451.
- HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M. C. Free radical in Biology and Medicine. – Clarendon Press, Oxford, 1989. – P. 1-51.
- PANDA S.K., PATRA S. K. Physiology of chromium toxicity in plants – a review // Plant. Physiol. Biochem. – 1997. – N 24. – P. 10-17.
- PANDA S.K., CHAUDHURY I. and KHAN M.H. Heavy metal induced lipid peroxidation affects antioxidants in wheat leaves // Biol. Plant. – 2003. – N 46. – P. 289-294.
- PICKERING D.C., PUJA I.L. Mechanism for the uptake of zink by *Fontinalis antipyretica* // Physiol. Plantarum. – 1969. – N 22. – P. 653-661.
- REIMANN C., NISKAVAARA H., KASHULINA G. et al. Critical remarks on the use of terrestrial moss (*Hylocomnium splendens* and *Pleurozium schreberi*) for monitoring of airborne pollution // Environ. Pollut. – 2001. – Vol. 113, N 1. – P. 41-57.
- SERGIO C., SENECA A., MAGUAS C., BRANQUINHO C. Biological responses of *Sphagnum auriculatum* Schimp. to water pollution by heavy metals // Cryptogamie, Bryologie et Lichenologie. – 1992. – N 13. – P. 155-163.
- SERGIO C., FIGUEIRA R., CRESPO A.M.V. Observation of heavy metal accumulation in the cell walls of *Fontinalis antipyretica*, in a Portuguese stress affected by mine effluent // Journal of Bryology. – 2000. – N 22. – P. 251-255.
- SEREGIN I.V., IVANOV V.B. Histochemical investigation of cadmium and lead distribution in plants // Russian Journal of Plant Physiol. – 1997. – T. 44, N 6. – P. 791-796.
- SMITH J., VIERHGELLER T.L., THRONE C.A. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenate using 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) // Annal. Biochem. – 1988. – N 175. – P. 408-413.
- STADTMAN E.R., BERLETT B.S. Reactive Oxygen Species in Biological Systems / Eds. D.I. Gilbert, P. Colton. – New York: Kluwer Academic, 1999. – P. 657-675.
- STEINNES E., HANSEN J.E., RAMBAEK J.P., VOGT N.B. Atmospheric deposition of trace elements in Norway: temporal and spatial trends studies by moss analysis // Water Air Soil Pollut. – 1994. – N 74. – P. 121-140.
- YENNE S.P., HATZIOS K. Influence of oxime ether on glutathione content and glutathione-related enzyme activity in seeds and seedlings of grain sorghum // Z. Naturforsch. – 1990. – N 45. – P. 96-106.

Рекомендує до друку
Т.П. Бланковська

Отримано 15.03.2007 р.

Адреса автора:

Н.Я. Кияк
Інститут екології Карпат
НАН України
вул. Стефаника, 11
Львів, 79000
Україна
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua

Author address:

N. Ya. Kyjak
Institute of Ecology of the Carpathians
National Academy of Sciences of Ukraine
Stefanyka Str., 11
Lviv 79000
Ukraine
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua