

УДК 581.1

## **ЦИТОГЕНЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ МЕРИСТЕМНИХ КЛІТИН КОРЕНІВ РОСЛИН КУКУРУДЗИ ЗА РОЗДІЛЬНОЇ ТА СУМІСНОЇ ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

Л.В. БОГУСЛАВСЬКА, Л.В. ШУПРАНОВА, О.М. ВІННИЧЕНКО

Науково-дослідний інститут біології Дніпропетровського національного університету ім. Олесь Гончара, Україна, 49010, м. Дніпропетровськ, пр. Гагаріна, 72 e-mail: milbo@rambler.ru

*Проведено порівняльний аналіз впливу солей кадмію ( $2 \times 10^{-4}$  моль/л), свинцю ( $2 \times 10^{-3}$  моль/л), нікелю ( $1 \times 10^{-4}$  моль/л) та їхньої комбінації на цитогенетичні параметри клітин кореневої апікальної меристеми *Zea mays* L. Показано, що іони тестованих металів інгібують ріст коріння, знижують мітотичну активність клітин меристеми та індують появу хромосомних пошкоджень. Встановлено як загальні, так і специфічні закономірності у відповідній реакції клітин кореневої меристеми кукурудзи як на окрему, так і на сумісну дію іонів важких металів.*

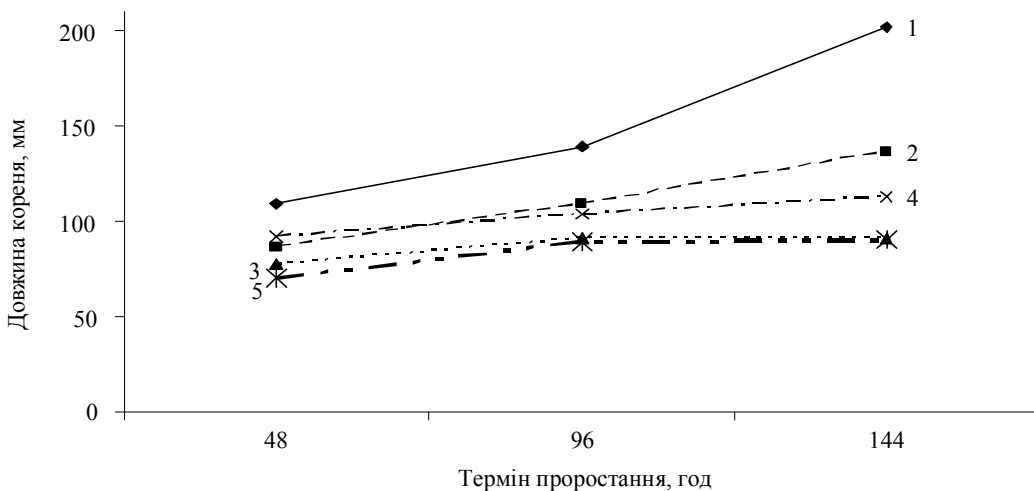
*Ключові слова:* кукурудза, іони, кадмії, свинець, нікель, меристема, аберації хромосом, пікноз.

**Вступ.** Екологічна ситуація, яка склалася за останні десятиріччя, характеризується високим рівнем важких металів у навколишньому середовищі. І якщо ефекти токсичного впливу окремих інгредієнтів забруднення середовища досліджені досить повно [1–3], то відомості про одночасну дію двох і більше стрес-факторів на цитогенетичні та фізіолого-біохімічні системи культурних рослин у процесі індивідуального розвитку вкрай обмежені [4]. Існує ряд фактів, що свідчать про високу частоту індукції синергічних і антагоністичних ефектів в умовах спільної дії на рослини низьких концентрацій свинцю і кадмію і що саме ці ефекти значною мірою визначають у дослідженому діапазоні вихід цитогенетичних порушень [5]. Підкреслюється, що використання результатів вивчення роздільної дії стрес-факторів для прогнозу біологічних ефектів їх сумісного впливу призведе до суттєвих викривлень реальної картини, що спостерігається в експерименті. У переважній більшості робіт досліджується подвійний вплив важких металів на цитофізіологічну активність меристематичних тканин. Тоді як потрібна дія зовсім не вивчалась. У зв'язку з цим метою роботи було вивчення впливу іонів свинцю, кадмію, нікелю та їх комбінації на цитогенетичну активність меристематичних клітин коренів рослин кукурудзи.

### **Матеріали і методи**

Об'єктом дослідження слугували кореневі меристеми паростків рослин гібриду кукурудзи Дніпровський 310 МВ, які перші дві доби виро-

© Л.В. БОГУСЛАВСЬКА, Л.В. ШУПРАНОВА, О.М. ВІННИЧЕНКО, 2009



**Рис. 1.** Фітотоксична дія важких металів та їх суміші на проростки кукурудзи: 1 — контроль; 2 —  $Cd^{2+} \cdot 2 \cdot 10^{-4}$  моль/л; 3 —  $Pb^{2+} \cdot 2 \cdot 10^{-3}$  моль/л; 4 —  $Ni^{2+} \cdot 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л; 5 —  $Cd^{2+} + Pb^{2+} + Ni^{2+}$

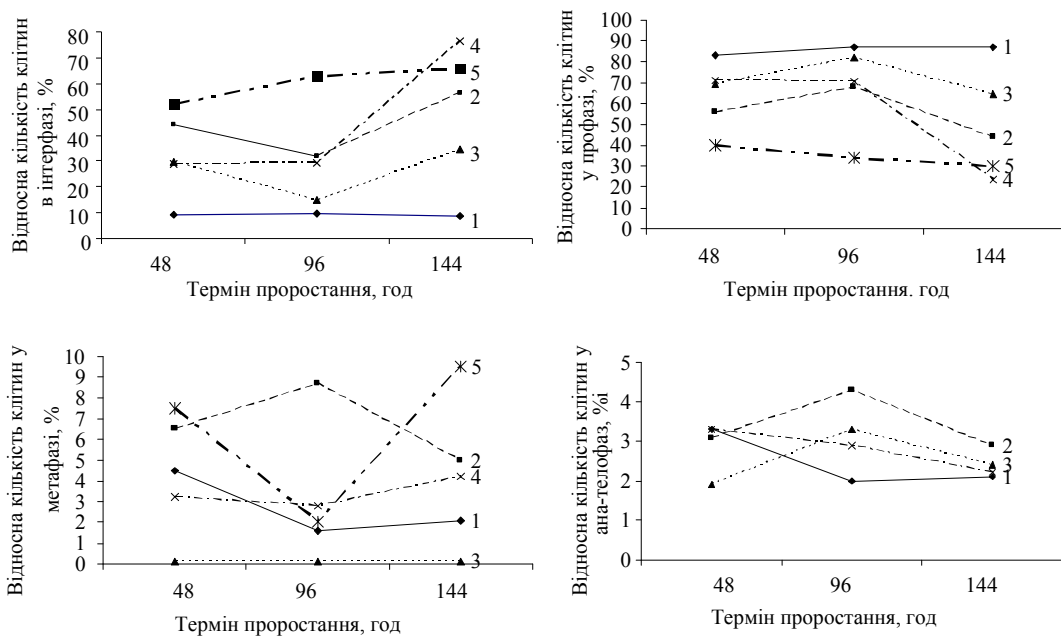
шували на воді, а потім пересаджували на середовище з нітратами свинцю ( $2 \times 10^{-3}$  моль/л), кадмію ( $2 \times 10^{-4}$  моль/л) та нікелю ( $1 \times 10^{-4}$  моль/л). Відбір проводили через 48-, 96- і 144-годинної дії ксенобіотиків. Токсичність модельних розчинів нітратів важких металів оцінювали за інгібуючою дією на ріст коренів кукурудзи. Для визначення мутагенного ефекту важких металів використовували анафазо-телофазний метод обрахування перебудов хромосом у клітинах кореневих меристем кукурудзи. Фіксацію, мацерацію, приготування тимчасових давлених препаратів проводили за Паушевою [6]. Статистичну обробку результатів здійснювали згідно методикам Лакіна [7].

### Результати і обговорення

Характер реакції проростків кукурудзи на дію іонів важких металів був однотипним і полягав у гальмуванні росту коренів, ступінь якого залежав від виду ксенобіотика та його концентрації (рис. 1). Так, через дві доби впливу найбільше інгібуння (44 %) спри-

чиняли іони свинцю, найменше — іони нікелю (15,4 %). Іони кадмію займали середню позицію (21 %), яка зберігалася і на 96-ту годину. На 144 годину інгібуння росту коріння зростає в 1,5 рази. Зміни росту коріння за дії свинцю зазнали більшого впливу порівняно з іншими ксенобіотиками: на останньому етапі встановлено 56% інгібуння росту коріння. Для дії іонів нікелю характерним було підвищення фітотоксичності на 96-ту годину (в 1,7 рази), а на 144-ту — в 1,7 рази порівняно з 96-тою год. Сумісна дія важких металів на 48 і 96 год. спричиняла гальмування росту коренів на 36%, а на 144 годину їхня фітотоксичність підвищувалась у 1,6 рази. Із рис. 1 видно, що ступінь інгібуння росту визначається у суміші іонами свинцю.

Поряд з інгібунням кореневого росту сполуками важких металів спостерігали потемніння меристеми. За дії іонів свинцю і суміші ксенобіотиків виявлені брунатні кінчики коренів, що свідчить про некроз меристематичної тканини. Для встановлення можливих

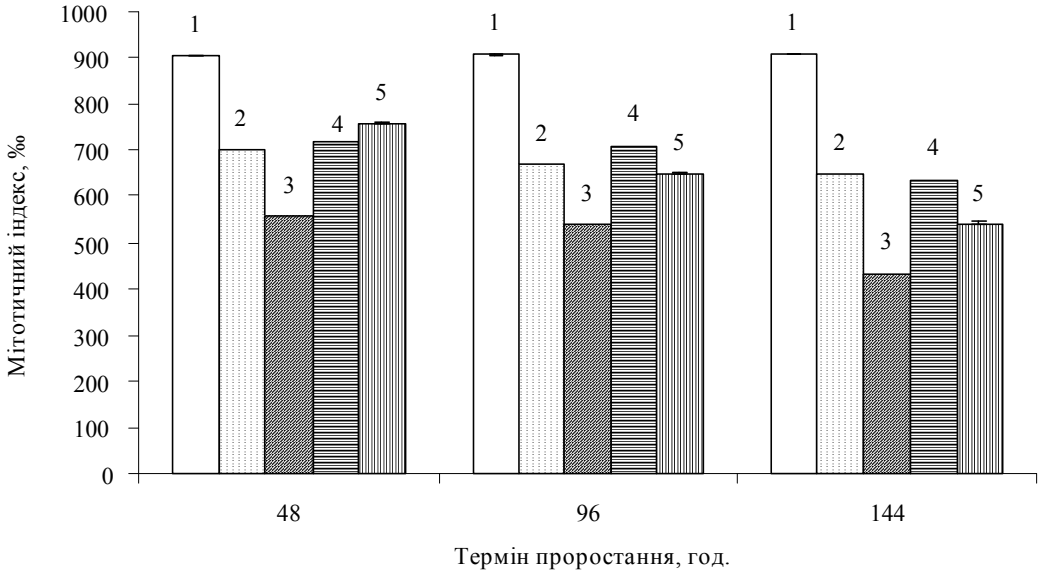


**Рис. 2.** Динаміка змін відносної кількості клітин на стадіях мітозу (%) протягом проростання: 1 — контроль; 2 —  $Pb^{2+} \cdot 10^{-3}$  моль/л; 3 —  $Cd^{2+} \cdot 10^{-4}$  моль/л; 4 —  $Ni^{2+} \cdot 10^{-4}$  моль/л; 5 —  $Cd^{2+} + Pb^{2+} + Ni^{2+}$

патологічних змін за дії нітратів досліджуваних важких металів на клітини, що діляться, проведено цитологічний аналіз кореневих меристем проростків кукурудзи, оброблених тестованими речовинами. Результати досліджень наведено на рис. 2. Встановлено значне підвищення частки клітин, що знаходяться на стадії інтерфази через 48 год. вирощування на середовищі з іонами важких металів. На 96 год. кількість інтерфазних клітин зменшується порівняно з 48 год. а на 144-ту год. знову підвищується, причому досить суттєво (в 4–8 разів). Особливо значну затримку на стадії інтерфази у цей період спостерігали у варіанті з іонами нікелю (72 % усіх клітин). Суміш ксенобіотиків спричиняла підвищення інтерфазних клітин на досить великому рівні (в 5,8 разів) вже на першій стадії відбору ме-

ристеми і далі зростала на 16 і 22 % (96 і 144 год. відповідно). У цілому за комбінованої дії важких металів кількість інтерфаз підвищилась порівняно з контролем у 5,8–7,3 рази.

Після 48-годинної інкубації з іонами важких металів більшість клітин знаходилася на стадії профазы, але в меншій кількості порівняно з контролем: за дії іонів свинцю на 39,2, кадмію на 17,4 і нікелю на 20 %. На 96-ту годину дії іонів нікелю кількість профазы залишалась практично на рівні 48-годинної дії, а за дії іонів свинцю і кадмію збільшувалась на 21,9 і 18 % відповідно порівняно з 48-ю годинною, але порівняно з контролем їхня кількість залишається меншою. На наступному етапі росту (144 год.) для всіх металів спостерігали зниження частки профазы, особливо у варіанті з іонами нікелю (в 7,2 рази). Для



**Рис. 3.** Мітотична активність клітин кінчика кореня проростків кукурудзи за дії іонів важких металів: 1 — контроль; 2 —  $\text{Cd}^{2+} 2 \cdot 10^{-4}$  моль/л; 3 —  $\text{Pb}^{2+} 2 \cdot 10^{-3}$  моль/л; 4 —  $\text{Ni}^{2+} 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л; 5 —  $\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+} + \text{Ni}^{2+}$

зразків з іонами кадмію характерним залишається переважна кількість профаза, але нижча на 36 %, ніж у контролі.

У досліджених варіантах значно змінюється кількість метафаз, анафаз і телофаз (рис. 2), причому динаміка змін кількості клітин у часі для кожного виду металу була різною. Іони кадмію спричиняли зниження кількості анафаз і, особливо, метафаз порівняно з контролем протягом усього періоду спостереження. Кількість телофаз була підвищеною (у 5 разів) тільки на 96 год. дії іонів кадмію. Характерною особливістю дії іонів свинцю було підвищення кількості метафаз (в 1,4–5,4 рази), телофаз (в 1,2–3,5 рази) протягом всього періоду вирощування проростків кукурудзи.

Кількість анафаз була підвищеною тільки на 96 і 144. год впливу ксенобіотика. За дії іонів нікелю спостерігалися також всі фази мітозу. Порівняно з контролем була підвищеною кількість ме-

тафаз і анафаз (на 48 і 96 год.), найвища кількість телофаз зареєстрована на 96 год. (в 1,8 рази), яка на 144 год. виявилася різко зниженою (в 6 разів) у порівнянні з контролем. Таким чином, досліджувані агенти істотно впливали на співвідношення фаз мітозу. За сумісної дії важких металів анафаз та телофаз не спостерігали, але суттєво підвищеною (в 1,6–4,3 рази) була кількість метафаз порівняно з контролем. Збільшення кількості клітин у метафазі та відсутність ана- та телофаз може свідчити про наявність метафазного блоку і порушення функціонування веретена поділу.

За дії важких металів мітотична активність клітин у кореневій меристемі кукурудзи зазнає суттєвих змін (рис. 3). Найбільшу фітотоксичність протягом всього періоду проростання за цим показником спричиняли іони свинцю, інгібуюча дія яких складала від 38 до 53 %. Приблизно однаковий ступінь

**Таблиця.** Частота різних типів порушень у мітотичних клітинах кукурудзи Дніпровський 310 МВ за дії важких металів та їхньої комбінації

Тестовані сполуки важких металів та їх концентрації, мкМ	Хромосомні дефекти, %		Індекс аберацій, %	Пікнотичні ядра, %
	хромосомні мости	фрагменти		
48-ма год.				
Контроль	0,7 ± 0,02	0,3 ± 0,01	1,0 ± 0,07	-
Cd <sup>2+</sup> 20	6,3 ± 0,15	3,7 ± 0,65	10,0 ± 1,95	13,7 ± 1,90
Pb <sup>2+</sup> 200	3,0 ± 0,19	3,0 ± 0,46	4,6 ± 0,16	4,8 ± 1,10
Ni <sup>2+</sup> 10	8,7 ± 0,23	4,6 ± 0,50	13,3 ± 1,03	1,7 ± 0,80
Суміш	ана-, телофази відсутні			63,2 ± 4,80
96-та год.				
Контроль	1,0 ± 0,20	0,6 ± 0,15	1,6 ± 0,20	-
Cd <sup>2+</sup> 20	6,0 ± 0,22	5,7 ± 0,52	11,6 ± 1,03	21,5 ± 1,30
Pb <sup>2+</sup> 200	4,0 ± 0,16	5,7 ± 0,31	9,6 ± 0,18	51,2 ± 6,70
Ni <sup>2+</sup> 10	11,0 ± 0,92	3,0 ± 0,19	14,0 ± 1,25	1,9 ± 0,50
Суміш	ана-, телофази відсутні			
144-та год.				
Контроль	2,0 ± 1,58	1,3 ± 0,14	3,3 ± 0,19	-
Cd <sup>2+</sup> 20	7,6 ± 1,00	5,3 ± 0,20	13,0 ± 0,92	29,1 ± 1,60
Pb <sup>2+</sup> 200	9,0 ± 1,23	2,6 ± 0,11	11,6 ± 0,84	57,4 ± 4,60
Ni <sup>2+</sup> 10	11,4 ± 1,00	6,7 ± 0,19	18,0 ± 0,90	6,5 ± 0,40
Суміш	ана-, телофази відсутні			66,3 ± 5,00

• - відсоток аберацій на 300 мітотичних клітин

гальмування мітотичної активності показали іони кадмію і свинцю (21–30%). Одночасна дія іонів металів виявила менш токсичний ефект на процес поділу клітин, особливо на першому етапі спостереження (48 год.), де значення MI були найбільшими порівняно з окремою дією ксенобіотиків. У подальшому інгібуюча дія суміші підвищувалась, але мала нижчі показники за впливу іонів свинцю на 20–26%.

Аналіз отриманих даних показав високу силу кореляційного зв'язку між ростою та мітотичною активністю коренів: після 48-годинного проростання на середовищі з іонами важких металів величина коефіцієнту кореляції становила 0,88, після 96 год. — 0,97 і 144 год. — 0,92.

На тимчасових давлених препаратах кінчиків коренів проростків кукурудзи, що піддавались дії важких металів та їхньої суміші, нами зареєстровані пошкодження мітозу: за дії усіх досліджуваних металів виявлено утворення фрагментів хромосом та хромосомних мостів. За дії іонів свинцю на твірні тканини коренів кукурудзи кількість хромосомних мостів та фрагментів збільшувалась протягом всього періоду проростання (табл.).

Вплив нікелю на рівень хромосомних аберацій був більшим, ніж у свинцю і кадмію, незважаючи на значно нижчий його вміст у середовищі вирощування. Іони кадмію збільшували частоту абераційних ана- та телофаз у меристематичних клітинах кореня ку-

курудзи у 10 разів щодо контролю на 48-му годину дії. Порівняно з контролем за дії іонів нікелю значення ІА збільшувалось у 13 разів на 48 год., на 96 год. у 8,8 і на 144 год. — у 5,5 рази. Таким чином, найбільший внесок в індукцію хромосомних аберацій мали іони нікелю, значно менший вплив на початкових стадіях дії ксенобіотика виявив свинець. Це підтверджує висновок, зроблений у роботі [5], що перевищення гранично допустимих концентрацій в абіотичному середовищі не означає, що саме ці фактори визначають величину біологічних ефектів. За комбінованої дії ксенобіотиків виявлено суттєвий відсоток пікнотичних ядер, що свідчить про загибель клітин.

### Висновки

Таким чином, за дії зазначених концентрацій важких металів спостерігали інгібування росту коренів проростків кукурудзи, причому за дії нітратів кадмію і свинцю ступінь інгібування росту із часом мало змінювався (на 11–12%), у той час як за впливу іонів нікелю зростала майже в три рази. За комбінованої дії ступінь інгібування росту коренів визначався у суміші іонами свинцю. Мутагенні ефекти за дії вивчених важких металів відрізнялися за рівнем хромосомних пошкоджень. Найбільшу частоту абераційних клітин спричиняли іони нікелю, найменшу — іони свинцю. За комбінованої дії ксенобіотиків анателофаз не виявлено, значення мітотичного індексу вищі за окрему дію кожного з компонентів суміші. Суміш ксенобіотиків протягом всього періоду проростання затримувала клітини меристеми на стадії інтерфази (53–65 % всіх клітин), що може свідчити про їхній вплив на процес синтезу ДНК і гальмування переходу до клітинного поділу, у

той час як у контролі більшість клітин знаходилася на стадії профазі (82–87 %). Значну затримку на стадії інтерфази (144 год.) спостерігали для іонів свинцю (52 %) і, особливо, для іонів нікелю (72 %). За комбінованої дії важких металів протягом проростання зростав пікноз ядерного матеріалу (від 63 до 66 %) і визначався впливом нітрату свинцю.

### Перелік літератури

1. Мельничук Ю.П., Лишко А.К. Влияние ионов кадмия на деление клеток меристемы кукурузы // Физиология и биохимия культурных растений. — 1991. — Т. 23. — С. 291–293.
2. Терек К.В., Юревич М.С., Речевська Н.Я. Нагромадження кадмію проростками кукурудзи та їх реакція на токсичну дію металу // Физиология и биохимия культурных растений. — 2000. — Т. 32, №6. — С. 506–511.
3. Терек К., Терек О., Баранов В. Вплив свинцю на ріст і активність АТФаза у рослин кукурудзи // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. — 2000. — Вип. 25. — С. 123–128.
4. Глубока В.М. Зміни компонентів ліпідного обміну за умов дії на рослини кукурудзи іонів важких металів та гербіцидів. — Автореф. дис. канд. біол. наук. — Київ, 2004. — 16 с.
5. Евсеева Т.И., Майстренко Т.А., Гераськин С.А., Белых Е.С. Влияние Cd и K на уровень цитогенетических эффектов, индуцируемых  $^{232}\text{Th}$  в корневой меристеме *Allium sera* L. // Цитология и генетика. — 2006. — №6. — С. 50–58.
6. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1990. — 352 с.

Представлено І.Р. Бариліаком  
Надійшла 22.12.2008

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ  
МЕРИСТЕМНЫХ КЛЕТОК КОРНЕЙ  
РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ  
ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ  
ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Л.В. Богуславская, Л.В. Шупранова,  
А.Н. Винниченко

Научно-исследовательский институт  
биологии Днепропетровского националь-  
ного университета им. Олеса Гончара,  
Украина, 49010, г. Днепропетровск,  
пр. Гагарина, 72 e-mail: milbo@rambler.ru

Проведен сравнительный анализ влияния солей кадмия, свинца и никеля и их комбинации на цитогенетические параметры клеток корневой меристемы *Zea mays* L. Показано, что ионы тестируемых металлов вызывают как кластогенные эффекты, так и нарушения хода митоза. Установлены общие закономерности в ответной реакции клеток корневой меристемы кукурузы как на отдельное, так и на совместное действие ионов тяжелых металлов. Наибольший антимитотический эффект вызвала смесь ионов тяжелых металлов, а также нитраты свинца и никеля при более продолжительном их действии.

*Ключевые слова:* кукуруза, ионы, кадмий,

свинец, никель, меристема, аберраци хромосом, пикноз.

THE CYTOGENETIC ACTIVITY  
OF MERISTEME OF ROOT CELLS  
OF PLANTS MAYS FOR SEPARATELY  
AND COMBINATION OF INFLUENCE IONS  
HEAVY METALS

L.V. Boguslavskaya, L. V. Shupranova, A.  
M. Vinnichenko

Researche institute of biology, Oles Honchar  
Dnepropetrovsk National University, Ukraine,  
49010, Dnepropetrovsk, Gagaryn avenue, 72  
e-mail: milbo@rambler.ru

The comparative analysis of influence of salts of cadmium ( $2 \cdot 10^{-4}$  mol/l), lead ( $2 \cdot 10^{-3}$  mol/l), nickel ( $1 \cdot 10^{-4}$  mol/l) and their combination, is conducted on the cytogenetic parameters of apical meristeme root cells. It is established that ions of testable metals inhibite growth of root, decrease mitotical activity of meristeme cells and induce appearance of chromosomal damages. Both general and specific, conformities to the law are set in the proper reaction of maiz meristeme root cells both on separate and on compatible effect of heavy metal ions.

*Key words:* mays, ions, cadmium, lead, nickel, meristeme, aberration, picnose, chromosome.