

wbfR. On the other hand, all researched strains contained vital functions and species-specific genes, notably *hapA*, *toxR*, *Hly*, *rtxC* which are 100% inherited. 5 strains of *V.cholerae O1* isolated in 1999 had *tcpAE* gene which is responsible for coregulated pili toxin adhesion. There was no *wbeT* gene present in the genome of 9 (28,1%) strains, and 16 (50,0%) strains had no *mshA* gene. Genome of 9 (28,1%) *V.cholerae O1* strains lacked both *wbeT* and *mshA* genes.

Therefore, molecular genetic study of 32 *V.cholerae O1* strains indicated absence of major pathogenic genes in their genome, which allows to classify them as avirulent variants of *V.cholerae O1*. Therefore, such cholera vibrios of O1 serogroup can't cause cholera outbreak so they are safe from epidemiological point of view.

The results of PCR testing of 100 *V.cholerae non O1* strains isolated from patients in Ukraine in 2011-2013 indicated that genomes of all studied strains contained no *ctxA*, *ace*, *zot*, *rstR*, *rstC*, *tcpAE*, *wbeT*, *wbfR* genes. Only 15% strains of *V.cholerae non O1* contained gene *mshA*, and 95% strains had genes *hapA* and *toxR*. Most conservative genes of *V.cholerae non O1* strains are genes *Hly* and *rtxC*, which were found in 100% of studied strains.

It is worth mentioning that presence of *Hly* and *rtxC* genes in the genomes of *V.cholerae non O1* and virulent/avirulent *V.cholerae O1* proves that they are critically important for functioning of cholera vibrios. The results obtained also indicate high importance of genes *hapA* and *toxR*, since they were found in 95 % of *V.cholerae non O1* strains and in 100% of *V.cholerae O1* strains.

After comparing the genome structure of *V.cholerae non O1* with the genomes of virulent/avirulent strains of *V.cholerae O1* by major pathogenic genes, a significant difference from virulent strains and insignificant difference from avirulent strains was found. Both avirulent *V.cholerae O1* strains and *V.cholerae non O1* strains don't have major virulence locuses CTX ϕ , RS2 ϕ , RS1 ϕ , TCP which are typical of virulent strains. Therefore such cholera vibrios can't cause cholera outbreak so they are epidemiologically safe. At the same time, genomes of avirulent strains of *V.cholerae O1* and *V.cholerae non O1* were found very similar by presence of genes responsible for type specificity and persistency – *rtxC*, *toxR*, *mshA*, *hapA*, *Hly*.

It is also important to mention that presence of *wbe* locus in the genome of cholera vibrios is a decisive factor between *V.cholerae O1* and *V.cholerae non O1*, because it is present only in the vibrios of O1 serogroup. Therefore, research indicates that biological properties and pathogenic potential of studied cholera vibrio strains can be clearly determined using only PCR method. This allows PCR to be used as primary method in laboratory practice and increase the speed of cholera vibrio identification.

Key words: V. cholerae O1/nonO1, pathogenic genes, virulence, PCR diagnostics

Рекомендує до друку

В. В. Грубінко

Надійшла 29.04.2016

УДК 58.02:582.683.2:577.152

С. М. РОМАНЧУК

Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601

ВПЛИВ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА АКТИВНІСТЬ β - ГЛЮКОЗИДАЗИ В ПРОРОСТКАХ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.

Досліджено вплив рентгенівських променів в дозах 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 та 12 Гр на активність β -глюкозидази в проростках *Arabidopsis thaliana*. Показано, що рентгенівське випромінювання

змінює активність β -глюкозидази. Виявлено розбіжності в показниках β -глюкозидазної активності при різних дозах рентгенівських променів. Розглянуто показники активності β -глюкозидази, як молекулярний маркер на дію іонізуючої радіації.

Ключові слова: рентгенівське опромінення, *Arabidopsis thaliana*, активність β -глюкозидази

Вступ. В середовищі пілотованого космічного апарату на рослини діє ряд несприятливих чинників, головними з яких є мікрогравітація та радіаційне випромінювання (космічна радіація). Космічне випромінювання в основному представлене іонізуючою радіацією, до якої, на ряду з іншими видами, відносяться рентгенівські промені та гамма випромінювання [24]. Дози опромінення постійно змінюються і залежать головним чином від рівня сонячної активності, параметрів орбіти та розташування космічного апарату відносно Землі [13].

Відомо, що радіорезистентність рослин залежить від виду та індивідуальних особливостей. Дослідження впливу рентгенівських променів в дозах 0.3, 10, 50 та 100 Гр на листки квасолі звичайної та квасолі карликової показало, що навіть при високих рівнях радіації, загальна анатомічна структура квасолі не відрізнялася від контролю. Лише при дозі в 100 Гр відбувалось збільшення числа хлоропластів в клітинах мезофілу та накопичення в цих структурах фенольних сполук. Оскільки фенольні сполуки є природними екранами, які знижують окислювальні процеси в клітині, припускається, що вони беруть участь у радіорезистентності видів квасолі звичайної та квасолі карликової. Проте, зменшення розміру хлоропластів та зниження вмісту хлорофілу показує, що при високих рівнях радіації фотосинтез все ж таки порушується [9, 10].

Завдяки здатності змінювати фізіологічну активність у відповідь на стрес, що істотно залежить від пластичності функціонування органел, рослини адаптуються до умов космічного польоту [3, 14, 20]. Види родини Brassicaceae характеризуються наявністю в клітинах білкових тілець, що є похідними гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (ГЕР) і тому отримали назву ЕР-тілець. Вони утворюються як локальні розширення ГЕР, в яких накопичується білок β -глюкозидаза, що є головним компонентом ЕР-тілець [16, 21]. β -глюкозидаза (глюкозидглюкогідролаза, КФ 3.2.1.21) належить до класу гідролаз, що каталізує гідроліз β -глюкозидних зв'язків в аріл- та алкіл- β -D-глюкозидах, глюкопротеїнах, глюколіпідах та в β -подібних олігосахаридих [25]. Цей ензим присутній у клітинах прокариот та еукаріот, але найменше вивчений в рослин [1, 5, 23]. Варто відмітити, що види Brassicaceae вважаються достатньо стійкими до опромінення іонізуючою радіацією. Згідно з даними НАСА (США) на орбітальній станції в межах кабіни космічного корабля дози, які впливають на живі організми коливаються в діапазоні від 5 до 12 мкГр за годину [13]. Вплив цих доз на рослини достовірно невідомий, тому метою нашої роботи було дослідити вплив рентгенівських променів на ріст проростків *A. thaliana* та основний молекулярний маркер β -глюкозидазу.

Матеріал і методи досліджень

Контроль. 3- та 13-добові проростки *A. thaliana* (L.) Неункео типу Columbia (Col-0) слугували контролем. Проростки вирощували з насіння, яке було попередньо стерилізоване «білизною» та 70°-ним спиртом, на агаризованому мінеральному середовищі MS [18] в двох чашках Петрі діаметром 12 см; в кожній чашці було по 200 проростків. Проростки росли за освітлення 12000 лк (з фотоперіодом 16 годин освітлення та 8 годин темряви) при температурі 23±1 °С та відносній вологості повітря 67±1 %.

Дослід. В досліді мали 3- та 13-добові проростки *A. Thaliana* (L.) Неункео типу Columbia (Col-0). 3-добові проростки опромінювали рентгенівськими променями на приладі РУМ-17 (потужність дози 0,43 сГр/сек), в дозах 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 та 12 Гр в окремих чашках Петрі для кожної дози; в кожній чашці було по 200 проростків. Температура, умови росту та освітлення були ідентичними контролю.

Опромінені проростки досліджували через 2 години та 10 діб після опромінення. Для контролю використовували проростки того самого віку, однак не опромінені.

Активність β -глюкозидази визначали за методом [17] з модифікаціями. 100 мг проростків *A. thaliana* гомогенізували в 1.5 мл 0.05 М фосфатного буферу (рН 7.0) та лишали на одну годину. Потім центрифугували протягом 10 хв при 8000g. Відбирали по 200 мкл супернатанту,

додавали до нього 200 мкл 0.1 М розчину 4-нітрофеніл-β-D-глюкопіранозиду на 0.1 М фосфатному буфері (рН 7.0). Інкубували в термостаті при 37°C протягом 40 хв. Реакцію зупиняли додаванням 0.25 М Na₂CO₃ (рН 9.0). Визначення оптичної густини проводили на спектрофотометрі СФ-2000 при довжині хвилі 420 нм. Концентрацію білків визначали за методом Бредфорд [11]. Активність β-глюкозидази визначали за кількістю 4-нітрофенолу, який утворюється під час реакції. Отримані одиниці вимірювання виражали як нМ 4-нітрофенолу/год/мг білку (далі одиниці активності).

Усі досліди проводили в трьох біологічних та трьох аналітичних повторях. Одержані результати були статистично достовірні при $P < 0,05$. Розрахунки та побудови діаграм виконували за допомогою прикладної програми Microsoft Excel 2000.

Результати досліджень та їх обговорення

У контролі 3-добові проростки мали темно-зелені сім'ядольні листки з цільною листовою пластинкою, овальні за формою. Первинний корінь мав зачатки бічних коренів. 13-добові проростки контролю мали розетку правильної форми, тобто мали чотири листки розетки більше 1 мм [7]. Листки розетки були овальні за формою, зубчасті по краям та мали насичений зелений колір. Корінь складався з головного кореня та розгалужених бічних коренів. Листки розетки та корінь 3- і 13-добових проростків були в тургорі. Після опромінення рентгенівськими променями морфологія 3- та 13-добових проростків, включаючи розмір, колір і тургистентність листків розетки та первинного кореня були подібні до контролю (детальний опис морфології та анатомії проростків *A. Thaliana* буде даний в наступному повідомленні).

Активність β-глюкозидази в контрольних 3-добових проростках становила 0,42 од. акт. β-глюкозидазна активність через 2 години після рентгенівського опромінення різними дозами змінювалась. Ці зміни показані на рис. 1. Збільшення дози опромінення сприяло нелінійному підвищенню активності ензиму.

Дані представлені на рис. 1. обрахували, прийнявши показники активності β-глюкозидази в контролі за 100%, а величини змін по дозах – за X. Найвищу активність β-глюкозидази виявила при дозах 0,5, 8 і 12 Гр та була вищою від контролю більш, ніж в два рази (рис. 2). Збільшення активності β-глюкозидази через 2 години після опромінення рентгенівськими променями порівняно з контролем може свідчити про участь цього ензиму в реакціях клітини на дію іонізуючої радіації на ряду з іншими стресами. Збільшення кількості ЕР-тілець та підвищення активності β-глюкозидази в *A. thaliana*, порівняно з контролем, спостерігалось при механічному пошкодженні, поїданні травоядними комахами та тваринами, дії патогенів, обробці хімічними речовинами, за умов кліностагування та дії рентгенівських променів [12, 15, 19, 22].

За даними літератури при дозі 0.5 Гр кількість пошкоджень ДНК в тридобових проростках *A. thaliana* досягала певного порогового значення, яке клітини сприймали як сигнал до індукції та реалізації адаптивних реакцій, в тому числі до активації репаративних систем [4]. Оскільки в наших дослідженнях найвища активність β-глюкозидази була в 3-добових проростках *A. Thaliana* через 2 години після опромінення при дозі 0.5 Гр, можемо припустити, що така доза є сигнальною для активації підвищення активності β-глюкозидази.

У контрольних 13-добових проростках β-глюкозидазна активність становила 0,38 од. акт., що, згідно перерахунку за вище вказаною формулою, становить 100%. Результати визначення активності β-глюкозидази на 10-ту добу після опромінення різними дозами рентгенівських променів представлені на рис. 1 та рис. 3. Проаналізувавши дані, можемо вважати, що β-глюкозидазна активність була не достовірно вищою від контролю.

Нами вперше показано, що найбільш реактивною була доза 8 Гр, ефект від якої зберігався впродовж 10-ти діб від моменту опромінення. Активність β-глюкозидази в 13-добових проростках за цієї дози була в 1,5 рази більшою від контролю. Можемо припустити, що β-глюкозидаза, як ензим, що належить до класу гідролаз, підвищує гідролітичні процеси, які спрямовуються на відновлення клітини після впливу рентгенівськими променями.

Клітини рослин активно реагують на вплив іонізуючої радіації. Однією з таких реакцій є зміна активності ензимів, зокрема гідролітичних. Встановлено залежність підвищення рибонуклеазної активності від доз опромінення іонізуючої радіації в онтогенезі *Linum*

usitatissimum. 15-добові вегетативні рослини льону піддавали дії різних доз гострого рентгенівського (1, 3, 5 та 15 Гр) та УФ-В опромінення (4,5; 8,5; та 12 кДж/м²). Показано, що із поступовим підвищенням дози опромінення на різних стадіях онтогенезу та в процесі старіння відбувається підвищення активності рибонуклеази в листках льону, як відповідь на дію короткохвильового УФ-В та іонізуючого рентгенівського опромінення [2]. Вивчено динаміку α -амілазної активності в коренях різного віку *Pisum sativum* при дії гамма променів. Насіння гороху в повітряно-сухому стані опромінювали гамма-променями в дозах 2, 5, 10, 50 Гр. Через 12 та 18 годин від початку пророщування насіння визначали активність α -амілаз в первинних коренях цитохімічним методом. Із збільшенням дози опромінення активність α -амілази зменшувалась щодо контролю. При цьому зменшення активності даного ензиму на 18-ту годину від початку замочування зерна було помітним, ніж на 12-ту годину. Показано, що функціонування α -амілази входить до комплексу механізмів, які беруть участь у протидії на вплив іонізуючої радіації [8].

Показано, що при обробці кінетином та епібрасинолідом за короткострокового (до однієї доби) дефіциту кисню і підвищених концентраціях CO₂ активність β -глюкозидаз в листках розетки проростків гороху зростала в 1,5-3 рази від 5- до 10-денного віку, а потім різко знижувалась [6]. Як нами досліджено, через 2 години після опромінення активність β -глюкозидази в 3-добових проростках *A. Thaliana* піднімалась в 1,5-2,5 рази порівняно з контролем, а на 10-ту добу після опромінення падала. Це може свідчити про те, що за такий період захисні реакції рослинних клітин *A. thaliana* на дію іонізуючої радіації набувають адаптивного характеру, ключову роль в яких виконує β -глюкозидаза.

Не зважаючи на те, що за зовнішнім виглядом опроміненні проростки не відрізнялись від контролю, на молекулярному рівні зміни відбувались, які проявились в зміні активності β -глюкозидази, що може бути молекулярним маркером на дію іонізуючої радіації. Нами показано, що вплив рентгенівських променів призводить до збільшення активності β -глюкозидази. Тому вважаємо, що цей ензим, як головний компонент ЕР-тілець, виконує захисну функцію в клітинах *A. thaliana*.

Залежність активності β -глюкозидази від дози опромінення є нерівнозначною, тому питання про відповідь рослин *A. thaliana* на дозу рентгенівських променів залишається відкритим.

Висновки

Дія рентгенівських променів в дозах 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 та 12 Гр на проростки *A. Thaliana* не впливає на зміну морфології цих рослин.

Опромінення рентгенівськими променями в дозах від 0,5 до 12 Гр змінює активність β -глюкозидази в проростках *A. thaliana*. Найбільш реактивною для цих рослин є доза 8 Гр.

1. Беккер Е. Г. Реакции трансглюкозилирования, катализируемые β -глюкозидазой из *Aspergillus japonicas* в присутствии модельных соединений лигнина / Е. Г. Беккер, А. В. Гусаков, А. П. Сеницын // Прикладная биохимия и микробиология. — 1991. — Т. 27, Вып. 4. — С. 482—485.
2. Берестяна А. М. Зміни рибонуклеазної активності опромінених УФ-В та рентгенівською радіацією сім'ядольних листків *Linum usitatissimum* у процесі старіння / А. М. Берестяна, Д. М. Гродзинський // Доп. НАН України. — 2014. — № 12. — С. 142—151.
3. Брыков В. А. Метаболическая активность митохондрий корней гороха в условиях моделированной микрогравитации / В. А. Брыков, И. П. Генерозова, А. Г. Шугаев, Е. Л. Кордюм // Доп. НАН України. — 2011. — № 9. — С. 142—146.
4. Данильченко О. О. Радіоадаптивна відповідь, індукована ультрафіолетовим випроміненням, у рослин: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.01 "Радіобіологія" / О. О. Данильченко. — К., 2005. — 24. [1] с
5. Демидов В. М. Нормалізація активності глюकोзидаз перитонеальної рідини як критерій протиспайкової ефективності ендогенних пептидів за умов спайкової хвороби / В. М. Демидов, С. М. Демидов // Український Журнал Хірургії. — 2009. — № 5. — С. 74—78.
6. Еремина Н. А. Влияние гипоксии и повышенных концентраций диоксида углерода на внутриклеточную компартментацию свободных аминокислот и активность β -глюкозидазы растений: дис. ... канд. биол. наук : 03.00.12 / Н. А. Еремина. — Воронеж, 2007. — 281 с.

7. Козеко Л. Є. Вплив радіціколу, інгібітору шаперонів HS90, на ріст проростків *Arabidopsis thaliana* після гамма-опромінення / Л. Є. Козеко / Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія біологія. — 2015. — № 1(34). — С. 14—21.
8. Міхєєв О. М. Системність механізмів радіогермесисних ефектів у рослин / О. М. Міхєєв, Л. Г. Овсяннікова, Л. В. Войтенко, В. В. Жук, академік НАН України Д. М. Гродзинський. // Доп. НАН України. — 2016. — № 4. — С. 106—110.
9. Arena C. Growth alteration and leaf biochemical responses in *Phaseolus vulgaris* exposed to different doses of ionizing radiation / C. Arena, V. Micco, A. Maio // Plant biology. — 2014. — Vol. 16(1). — P. 194—202.
10. Arena C. Response of *Phaseolus vulgaris* L. plants to low-let ionizing radiation: growth and oxidative stress / C. Arena, V. Micco, G. Aronne et al. // Acta Astronautica. — 2013. — Vol. 91. — P. 107—114.
11. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // Analytical Biochemistry. — 1976. — 72. — P. 248—254.
12. Hayashi Y. A proteinase-storing body that prepares for cell death or stresses in the epidermal cells of *Arabidopsis* / Y. Hayashi, K. Yamada, T. Shimada et al. // Plant Cell Physiol. — 2001. — 42. — P. 894—899.
13. International space station internal radiation monitoring — 07.14.16. Режим доступу: http://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/1043.htm
14. Kochubey S. M. Microgravity affects the photosynthetic apparatus of *Brassica rapa* L. / S. M. Kochubey, N. I. Adamchuk, E. I. Kordyum, J. A. Guikema // Plant Biosystems. — 2004. — Vol. 138(1). — P. 1—9.
15. Matsushima R. An endoplasmic reticulum derived structure that is induced under stress conditions in *Arabidopsis* / R. Matsushima, Y. Hayashi, M. Kondo et al. // Plant Physiol. — 2002. — N. 130. — P. 1807—1814.
16. Matsushima R. A novel ER-derived compartment, the ERbody, selectively accumulates a β -glucosidase with an ER retention signal in *Arabidopsis* / R. Matsushima, M. Kondo, M. Nishimura, I. Hara-Nishimura // Plant. J. — 2003. — No.33. — P. 493—502.
17. Matsuura M. Objectionable flavor of soymilk developed during the soaking of soybeans and its control / M. Matsuura, A. Obata, D. Fukushima // Journal Food Science, Chicago. — 1989. — Vol. 54(3). — P. 602—605.
18. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. — 1962. — Vol. 15(13). — P. 473—497.
19. Nagano A. J. Antagonistic jacalin-related lectins regulate the size of ER body-type β -glucosidase complexes in *Arabidopsis thaliana* / A. J. Nagano, Y. Fukao, M. Fujiwara et al. // Plant Cell Physiol. — 2008. — 49. — P. 969—980.
20. Nedukha E. M. Effects of microgravity on the structure and function of plant cell walls / E. M. Nedukha // Int. Rev. Cytol. — 1996. — Vol. 170. — P. 39—77.
21. Ogasawara K. Constitutive and inducible ER bodies of *Arabidopsis thaliana* accumulated distinct β -glucosidases / K. Ogasawara, K. Yamada, J. T. Christeller et al. // Plant Cell Physiol. — 2009. — Vol. 50(3). — P. 480—488.
22. Romanchuk S. ER bodies in *Arabidopsis thaliana* root apices under clinorotation and after X-Ray irradiation / S. Romanchuk // 9th International Conference “Plant Functioning Under Environmental Stress”, Institute of Plant Physiology, PAS, Cracow, Poland. — 2013. — P. 185—192.
23. Takashi A. A cell wall-bound β -glucosidase from germinated rice: purification and properties / A. Takashi, K. Nanae // Phytochemistry. — 1998. — Vol. 48. — P. 49—54.
24. What is space radiation? – Space radiation analysis group – NASA, JSC. Режим доступу: <http://www.srag-nt.jsc.nasa.gov/spaceradiation/what/what.cfm>
25. Xu Z. Functional genomic analysis of *Arabidopsis thaliana* glycoside hydrolase family 1 / Z. Xu, L. Escamilla-Trevino, L. Zenet et al. // Plant Mol. Biol. — 2004. — 55. — P. 343—367.

С. М. Романчук

Інститут ботаніки імені Н. Г. Холодного НАН України

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ В-ГЛЮКОЗИДАЗЫ В ПРОРОСТКАХ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) НЕУНН.

Исследовано влияние рентгеновских лучей в дозах 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 и 12 Гр на активность β -глюкозидазы в проростках *Arabidopsis thaliana*. Показано, что рентгеновское облучение изменяет активность β -глюкозидазы. Выявлены расхождения в показателях β -глюкозидазной активности при различных дозах рентгеновских лучей. Рассмотрены показатели активности β -глюкозидазы как молекулярный маркер на действие ионизирующей радиации.

Ключевые слова: рентгеновское облучение, *Arabidopsis thaliana*, активность β -глюкозидазы

S. M. Romanchuk

M. G. Kholodny Institute of Botany of NAS of Ukraine

INFLUENCE OF IONIZING RADIATION ON THE β -GLUCOSIDASE

The article deals with the influence of X-ray radiation on the β -glucosidase activity of *Arabidopsis thaliana* 3- and 13-day-old seedlings grown in the stationary conditions.

The *Brassicaceae* family is characterized by the presence of ER bodies in plant cells, which are derivative of granular endoplasmic reticulum. The research demonstrates that an enzyme β -glucosidase with an ER retention signal selectively accumulates in *A. thaliana* ER bodies. β -glucosidase (EC 3.2.1.21) catalyzes the hydrolysis of aryl- and alkyl- β -glucosides, releasing glucose and aglycone. This enzyme is known to perform a protective function in responses to different unfavorable factors. The study has proved that ER bodies are highly susceptible and sensitive to injuries, mechanical pressure, influence of toxic substances, pathogen lesions, insect bites and clinorotation. It has been recently reported that formation of ER bodies in *A. thaliana* roots is sensitive to the influence of X-ray radiation since their quantity and size increase under X-ray radiation. In addition, ER bodies develop greater variability after X-ray radiation at a dose of 8 Gy. The level of β -glucosidase in the ER bodies has increased. The family Brassicaceae is quite resistant to irradiation. Therefore, the primary concern of this research is to study the effect of X-ray radiation on the β -glucosidase activity of *A. thaliana* seedlings.

Seeds of *A. thaliana* (line Columbia) were sterilized and then sown on the MS mineral medium. Seedlings have been growing for 3 and 13 days. Some of the 3-day-old seedlings were treated with X-ray radiation in dose of 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 Gy on the unit RUM-17 (Russia) (dose rate 0.43 cGr/sec). Seedlings were examined for two hours (3-day-old seedlings) and 10 days (13-day-old seedlings) as exposed to X-ray radiation. The control group was composed of seedlings of the same age but without such an exposure. To determine β -glucosidase activity we applied a modified method of Matsuura et al. (1989), using the synthetic substrate p-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside. The absorbance was measured in a spectrophotometer Specord M40, at 420 nm. Protein determinations were performed colorimetrically (Bradford, 1976). A unit of enzyme action was defined as the amount of enzyme which would release 1.0 mg of 4-nitrophenol in 40 minutes of reaction in 100 mg of *A. thaliana* sample. All experiments were carried out in three biological and three analytical repetitions.

The conducted research showed that leaves of 3-day-old *A. thaliana* seedlings from control group were small, round-shaped and of dark green color. The main root showed emerging lateral roots. In control group, the rosette of 13-day-old seedlings was of proper form. Besides, it was made up of four leaves, each more than 1 mm in size. These leaves were oval-shaped, serrated on the edges and of rich green color. The root included a main root and branching lateral roots. Organs of 3- and 13-day-old *A. thaliana* seedlings did not show any signs of stress after X-ray radiation.

The effect of β -glucosidase on 3-day-old seedlings was 0.42 units in a control group. After a two-hour exposure to X-ray radiation of different doses the effect of β -glucosidase has changed. Results demonstrated no correlation between a dose of irradiation and enzyme activity. The highest β -glucosidase activity was detected at doses of 0.5, 8 and 12 Gy. It has showed more than two-fold increase as compared to control group. β -glucosidase activity after exposure to X-ray radiation was: 0.92 units at dose of 0.5 Gy; 0.97 units at dose of 8 Gy; and 0.93 units at dose of 12 Gy. Other doses, however, had almost no influence on activity. Such a variability suggests that the difference could be due to genetic factors. Cells of *A. thaliana* seedling interpret a dose in 0.5 Gy as a signal to utilize adaptive mechanisms and, above all, to activate reparative system.

The measured effect of β -glucosidase on 13-day-old seedlings was 0.38 units in a control group. After a 10-day exposure to X-ray radiation of different doses the β -glucosidase activity did not differ greatly from seedlings under control. The highest β -glucosidase activity was detected at doses of 8 Gy. It has demonstrated more than 1.5-fold increase compared to a control group. β -glucosidase activity after X-ray radiation dose of 8 Gy was 0.59 units. It was first recorded that the most reactive dose was 8 Gy, with the effect of which lasting for 10 days after exposure to X-ray radiation.

Plant cells respond actively to the influence of ionizing radiation. One of these reactions is the change in enzyme activity, hydrolytic in particular. Provided that β -glucosidase is the main

component of ER bodies, we may assume that ER bodies are the original depositories of this protein under the influence of irradiation as the indicators of the activity of β -glucosidase after X-ray radiation at a dose of 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 Gy as a molecular marker of ionizing radiation have been considered.

Key words: X-ray radiation, Arabidopsis thaliana, β -glucosidase activity

Рекомендує до друку
В. В. Грубінко

Надійшла 11.04.2016

УДК 574.2

Х. В. ЧЕРЧЕНКО

Міжвідомча лабораторія моніторингу екосистем Азовського басейну Інституту морської біології та Мелітопольського державного педагогічного університету імені Б. Хмельницького
вул. Гетьманська, 20, Мелітополь, 72312

ВПЛИВ ПРИРОДНОЇ ТА АНТРОПОГЕННОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ НА РІЧКОВІ ЕКОСИСТЕМИ ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОГО ПРИАЗОВ'Я

Річкові екосистеми перебувають під постійним впливом як природних так і антропогенних перетворень. Серед чинників викликаних людською діяльністю слід виділити зарегулювання русла річки. В поєднанні з глобальними змінами клімату це призводять до незворотних процесів трансформації як гідрологічних характеристик так і біологічної складової річки.

Ключові слова: стік річок, зарегулювання русла, зміна клімату, іхтіофауна

Вступ. Упродовж тривалого періоду і донині степові річки перебувають під постійним використанням різноманітних господарських заходів [4]. Друга половина ХХ ст. відзначалась значним втручанням людини у гідрологічний режим річок, при чому на фоні антропогенних перетворень існують цілком закономірні природні зміни. Одними з них є як природна деформація русла під впливом різних ландшафтоутворюючих процесів, так і глобальна зміна клімату (перерозподіл атмосферних опадів та підвищення температури повітря у приземному шарі) [3].

Поєднання впливу природних та викликаних людською діяльністю чинників на процеси трансформації річкових екосистем потребують все більш детального та комплексного вивчення. Сучасне екстенсивне водокористування на малих річках призводить до таких негативних наслідків як руйнування природних біоценозів, а також вторинне забруднення за рахунок нерівномірного продукування біомаси [5].

Визначення показників біологічної складової, як основи стабільності водних екосистем, є одним з головних питань щодо відновлення водних ресурсів [1]. Таким чином, актуальність обраної теми стає більш гострою та вимагає нагального дослідження.

Основною метою є виявлення впливу зарегулювання та запруднення річок на трансформацію гідроекосистем Північно-Західного Приазов'я на фоні природних змін.

Досягнення поставленої мети зводиться до наступних задач:

- простежити динаміку ходу температурного режиму та атмосферних опадів в басейнах досліджуваних річок;
- проаналізувати статистичну значимість кліматоутворюючих чинників та виявити подальші тенденції;
- простежити довготривалі зміни в гідрологічному режимі досліджуваних річок;
- охарактеризувати стан різноманіття іхтіофауни під впливом комплексу природних та антропогенних змін.