

УДК 581.133.8

**ВПЛИВ КАДМІЮ, ПЛЮМБУМУ І ХРОМУ (VI) НА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ
АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В КЛІТИНАХ РЯСКИ (*LEMNA MINOR L.*)**

О. Бубис, Г. Антоняк

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: bubys_o@mail.ru, halyna_antonyak@yahoo.com*

У статті наведено результати досліджень впливу Кадмію, Плюмбуму та Хрому (VI) на активність ензимів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, каталаза) в клітинах ряски малої (*Lemna minor L.*) за культивування рослини в лабораторних умовах. Вміст досліджуваних елементів у середовищі культивування відповідав значенням 1–50 ГДК. Установлено, що динаміка ензимної активності в клітинах рослини залежить від концентрації досліджуваних елементів у водному середовищі. За наявності Хрому (VI), Кадмію і Плюмбуму в діапазоні концентрацій, відповідно, 1–4 ГДК, 1–10 ГДК і 1–20 ГДК активність антиоксидантних ензимів у клітинах ряски зростає. Однак супероксиддисмутазна активність клітин ряски пригнічується за вмісту Кадмію і Хрому (VI), відповідно, 50 ГДК та 20–50 ГДК, а каталазна активність – за вмісту цих елементів, відповідно, 20–50 ГДК і 10–50 ГДК. Плюмбум у зазначених концентраціях не виявляє інгібувального впливу на активність супероксиддисмутази, а каталазну активність пригнічує за наявності в середовищі на рівні 50 ГДК. Загалом толерантність антиоксидантних ензимів у рослинах ряски до впливу досліджуваних елементів зменшувалась у ряді: Плюмбум > Хром (VI) > Кадмій. Отримані результати свідчать, що стійкість антиоксидантної системи клітин ряски малої до інгібувальної дії Кадмію, Плюмбуму та Хрому (VI) може відігравати важливу роль у ремедіаційних властивостях рослини та здатності до акумуляції цих елементів за наявності їх у водному середовищі у значному діапазоні концентрацій.

Ключові слова: ряска, *Lemna minor L.*, Кадмій, Плюмбум, Хром (VI), ГДК, антиоксидантна система, супероксиддисмутаза, каталаза.

Антропогенне забруднення гідросфери – це важлива екологічна проблема, яка стала особливо актуальною впродовж останніх десятиріч. Порушення санітарно-гігієнічних вимог щодо очищення стічних вод і газоподібних викидів, нагромадження у довкіллі промислових відходів призвели до значного погіршення якості природних водойм і водотоків [33, 36, 40]. До широко розповсюджених поллютантів техногенного походження належать важкі метали, які можуть концентруватись у компонентах водної біоти і проявляти кумулятивні ефекти в організмі гідробіонтів, спричиняючи порушення клітинного метаболізму [11, 37, 40].

До рослин, розповсюджених у континентальних водоймах, належать представники роду ряска (*Lemna L.*), які за сучасною систематикою входять до складу підродини Lemnoideae (Ряскові) в родині Araceae (Ароїдні) [10]. Відомо, що рослини *Lemna* spp. характеризуються високою здатністю до акумуляції забруднювачів водного середовища, у тому числі Кадмію, Плюмбуму, Хрому [8, 14, 24], вміст яких у природних водоймах іноді багатократно перевищує гранично допустимі концентрації (ГДК) внаслідок забруднення промисловими стічними водами [4, 26]. Однак зміни метаболізму в клітинах ряски малої (*Lemna minor L.*), зумовлені нагромадженням цих елементів, досліджені недостатньо. Ра-

зом із тим, відомо, що за певних концентрацій важкі метали спричиняють розвиток хлорозу, некрозу клітин листків і коренів, зниження інтенсивності росту і накопичення біомаси водних рослин [37, 40].

У механізмах токсичності металів суттєву роль відіграють прооксидантні ефекти і провокування розвитку оксидативного стресу, який виявляється нагромадженням активних форм кисню (АФК) та продуктів пероксидації ліпідів, зменшенням вмісту природних антиоксидантів і пригніченням функцій захисних систем клітин [35]. Тому метою роботи було з'ясувати вплив Кадмію, Плюмбуму і Хрому (VI) на активність ензимів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, каталаза) в клітинах рослин *Lemna minor* L. за різних концентрацій цих елементів у середовищі культивування. Під час досліджень враховували значення ГДК Cd, Pb і Cr (VI) у природних водоймах для оцінки толерантності рослин ряски до антропогенного забруднення водних об'єктів важкими металами.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на культивованих у лабораторних умовах рослинах ряски малої (*Lemna minor* L.), які відбирали з мезотрофної ставкової екосистеми, розташованої на території Львівського національного аграрного університету (м. Дубляни Жовківського р-ну Львівської області). Зі стерилізованого 0,5% розчином NaOCl матеріалу, зібраного у природних умовах, вирощували вільну від мікроорганізмів культуру рослини відповідно до рекомендацій [2, 27].

Перед початком експерименту рослини переносили в колби зі стерильним поживним середовищем Стейнберга [27]. Зразки, які використовували як контроль (К), містили тільки поживне середовище. Дослідні зразки містили розчини солей металів (Д1–Д6 – CdCl₂; Д7–Д12 – Pb(CH₃COO)₂; Д13–Д18 – K₂Cr₂O₇) у концентраціях, підібраних із урахуванням значень ГДК у природних водоймах для Кадмію, Плюмбуму і Хрому (відповідно, 0,01 мг/л, 0,1 мг/л і 0,05 мг/л) [1, 3]. Діапазон досліджуваних концентрацій зазначених елементів становив 1, 2, 4, 10, 20 і 50 ГДК. Конкретний вміст Кадмію в дослідних зразках становив 0,01, 0,02, 0,04, 0,1, 0,2, 0,5 мг/л; Плюмбуму – 0,1, 0,2, 0,4, 1,0, 2,0, 5,0 мг/л; Хрому (VI) – 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 1,0, 2,5 мг/л. Дослідні та контрольні зразки культивували у трикратній повторності в асептичних умовах за температури 25°C і 16-годинного фотоперіоду впродовж 7 діб [27]. По закінченні експерименту рослини забирали зі середовища культивування, промивали дистильованою водою, висушували фільтрувальним папером і використовували для досліджень. Для виготовлення рослинного екстракту наважку рослинного матеріалу (500 мг) гомогенізували в 5 мл охолодженого калій-фосфатного буферу (0,1 М, рН 7,8) і центрифугували при 15 000 g (4°C) впродовж 20 хв. Надосадову рідину використовували для аналізу ензимної активності.

Супероксиддисмутазну активність (СОД, КФ 1.15.1.1) визначали методом [18], аналізуючи рівень інгібування ензимом процесу відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) за наявності NADH і феназинметасульфату. Ензимну активність виражали в умовних одиницях у перерахунку на 1 мг білка. За 1 умовну одиницю приймали активність СОД, необхідну для 50% інгібування швидкості відновлення НСТ. Каталазну активність (КФ 1.11.1.6) визначали спектрофотометрично [6], реєструючи зменшення оптичної густини при 240 нм під час розкладання H₂O₂. Ензимну активність визначали в мкмоль H₂O₂, розкладеного за 1 хв у перерахунку на 1 мг білка. Концентрацію білка визначали методом Лоурі та співавторів [20]. Отримані результати опрацьовували з використанням методів варіаційної статистики.

Результати і їхнє обговорення

Відомо, що Кадмій, Плюмбум і Хром не виконують біологічних функцій у клітинах рослин і навіть за невисоких концентрацій виявляють цитотоксичні та генотоксичні ефек-

ти [13, 30]. Однак водяні (як і наземні) рослини здатні акумулювати ці елементи, вбираючи їх із водного середовища [11, 21, 33, 36]. Це зумовлюється функціонуванням захисних механізмів, таких як адсорбція іонів металів на клітинній стінці та відкладання у вакуолях, індукція синтезу хелаторів (металотіонеїни та фітохелатини) та ін. [17]. За відсутності специфічних мембранних транспортерів для Кадмію, Плюмбуму і Хрому (VI) абсорбція цих елементів у клітини рослин здійснюється за допомогою транспортних систем, призначених для перенесення життєво важливих іонів. Наявні дані про те, що Кадмій у формі катіона Cd^{2+} надходить у клітини за допомогою транспортерів Zn^{2+} і Fe^{2+} та через Ca^{2+} -канали [28], Плюмбум – через Ca^{2+} -канали або низькоафінні транспортери катіонів [29, 39], а Хром (VI) у формі хромат-аніона (CrO_4^{2-}) – через систему транспорту есенціальних аніонів, таких як сульфат [11]. Акумулюючись у клітинах рослин, ці елементи впливають на різні ланки метаболізму, проте однією зі спільних ланок у механізмах їхньої дії є зміни прооксидантно-антиоксидантного балансу внаслідок стимуляції процесів утворення АФК та впливу на функціональну активність ензимів антиоксидантної системи [9, 30].

У процесі досліджень встановлено, що вплив Кадмію, Плюмбуму і Хрому (VI) на активність антиоксидантних ензимів у клітинах ряски залежить від концентрації цих елементів у середовищі культивування рослин. Зокрема, супероксиддисмутазна активність не змінюється за вмісту Кадмію 0,01–0,04 мг/л (що відповідає 1–4 ГДК), але значно зростає за подальшого підвищення концентрації цього елемента в середовищі (рис. 1). За концентрації Кадмію 0,1 і 0,2 мг/л цей показник досягає значень у 4,1 і 2,2 разу більших ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Однак за наявності Cd^{2+} на рівні 0,5 мг/л (50 ГДК) супероксиддисмутазна активність клітин істотно пригнічується ($p < 0,05$). Разом із тим, за концентрацій 0,04 і 0,1 мг/л Кадмій сприяє збільшенню каталазної активності, відповідно, в 1,3 та 1,6 разу ($p < 0,05$ – $0,01$), а за більших концентрацій (на рівні 20 і 50 ГДК) цей елемент інгібує активність каталази ($p < 0,05$ – $0,001$).

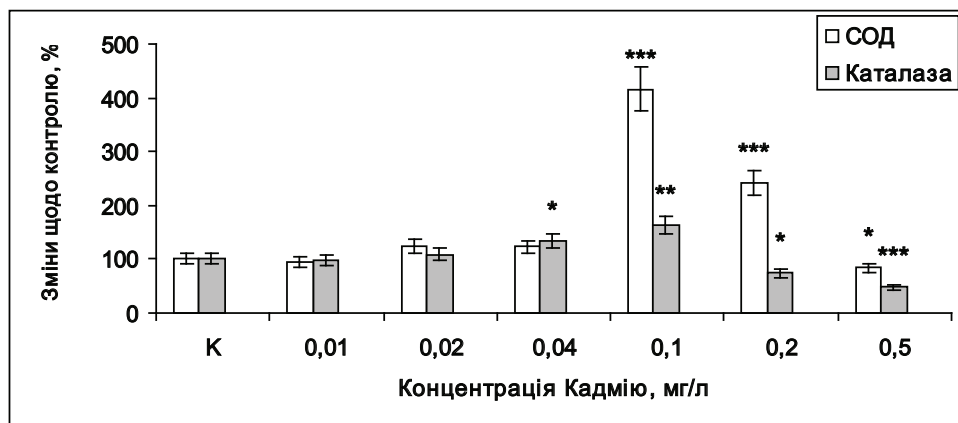


Рис. 1. Супероксиддисмутазна і каталазна активність у рослинах *Lemna minor* L., культивованих за наявності Кадмію у концентраціях 0,01–0,5 мг/л. На рис. 1 і 2 за 100% приймали ензимну активність, установлену в контрольних зразках (К); *, **, *** – вірогідність різниць у показниках між дослідними зразками і контролем (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$).

За наявності Плюмбуму в середовищі характерним є дозозалежне збільшення супероксиддисмутазнаї активності у діапазоні концентрацій 0,2–2,0 мг/л, які відповідають значенням 2–20 ГДК ($p < 0,01$ – $0,001$) (рис. 2). За вмісту Плюмбуму на рівні 50 ГДК (5,0 мг/л) активність СОД залишається на 41,8% більшою від контролю ($p < 0,05$). Каталазна

активність перевищує контроль за наявності Pb^{2+} у концентраціях 0,2–1,0 мг/л (2–10 ГДК) ($p < 0,01–0,011$), але зменшується за вмісту Pb^{2+} 5,0 мг/л, що відповідає 50 ГДК ($p < 0,05$).

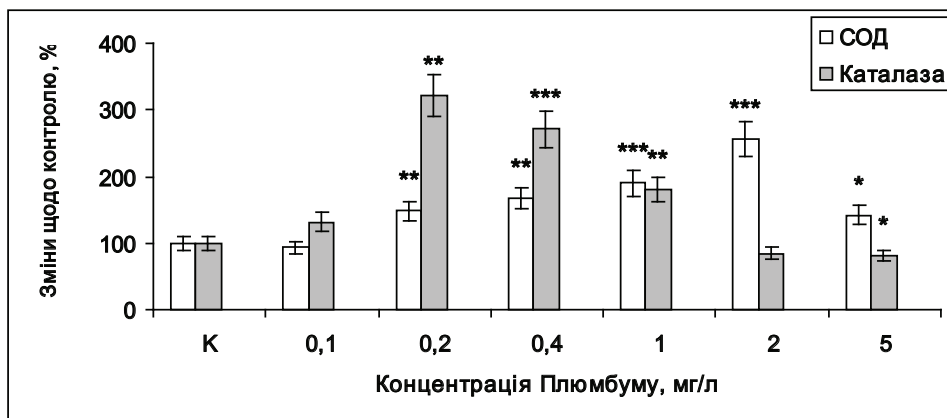


Рис. 2. Супероксиддисмутазна і каталазна активність у рослинах *Lemna minor* L., культивованих за наявності Плюмбуму в концентраціях 0,1–5,0 мг/л.

Наявність Хрому (VI) в середовищі культивування також впливає на активність ензимів антиоксидантної системи в рослинах ряски. Результати досліджень свідчать, що за концентрацій 0,1, 0,2 і 0,5 мг/л Хром (VI) сприяє збільшенню активності супероксиддисмутази, відповідно, в 2,3, 2,4 і 1,5 разу ($p < 0,001–0,01$), а за більших концентрацій – пригнічує активність ензиму ($p < 0,05$) (рис. 3). Каталазна активність інгібується за вмісту Хрому (VI) 0,5–2,5 мг/л, що відповідає 10–50 ГДК ($p < 0,05–0,01$).

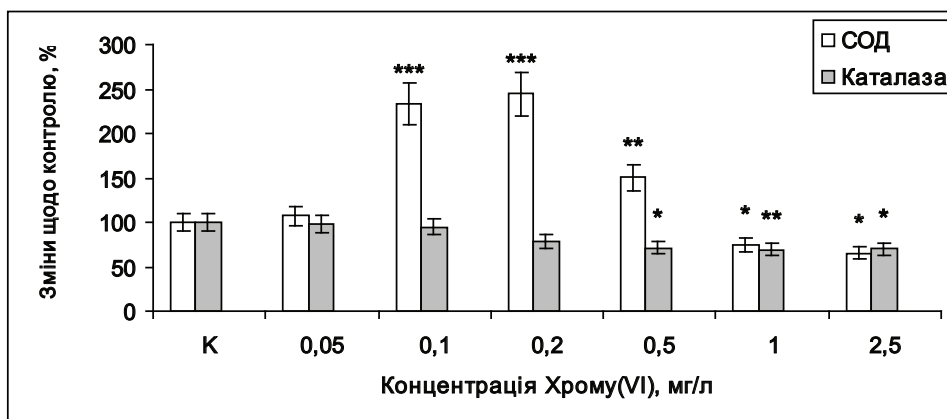


Рис. 3. Супероксиддисмутазна і каталазна активність у рослинах *Lemna minor* L., культивованих за наявності Хрому (VI) у концентраціях 0,05–2,5 мг/л.

Аналізуючи отримані результати, необхідно зазначити, що абсорбуючись із водного середовища в клітини рослин, Кадмій, Плюмбум і Хром (VI) виявляють прооксидантну дію, активуючи NADPH-залежну оксидазу, локалізовану в клітинних мембранах [29, 34, 38]. Цей ензим каталізує утворення супероксидного аніон-радикалу ($O_2^{\cdot-}$), який започатковує ланцюгові реакції утворення інших активних форм кисню та процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [22]. Метаболічна відповідь клітин полягає в експресії генів СОД та інших ензимів антиоксидантної системи, які беруть участь у детоксикації реакційно ак-

тивних метаболітів кисню [12, 16]. Крім того, важливе значення у захисті клітин мають неензимні антиоксиданти (аскорбінова кислота, глутатіон, фенольні сполуки, α -токоферол), які перехоплюють та інактивують вільні радикали й інші АФК [16, 30].

Із результатів наших досліджень випливає, що клітини ряски мають високий антиоксидантний потенціал, що дає змогу протистояти розвитку оксидативного стресу за певних концентрацій металів у водному середовищі. Про це свідчить підвищення ензимної активності у клітинах рослин, які культивували за наявності Хрому (VI), Кадмію і Плюмбуму в діапазоні концентрацій, відповідно, 1–4 ГДК, 1–10 ГДК і 1–20 ГДК. Активація СОД і каталази може являти собою захисну реакцію на інтенсифікацію процесів утворення АФК, зумовлену надходженням іонів зазначених елементів у клітини рослин [16].

Однак за високого вмісту металів функціональна активність захисної системи клітин може порушуватися внаслідок виснаження вмісту неензимних антиоксидантів, інактивації антиоксидантних ензимів під впливом АФК і продуктів ПОЛ [30]. Як свідчать результати наших досліджень, супероксиддисмутазна активність клітин ряски пригнічується за наявності Кадмію і Хрому (VI) в концентраціях, які становлять, відповідно, 50 ГДК та 20–50 ГДК, а каталазна активність – за вмісту цих елементів на рівні 20–50 ГДК і 10–50 ГДК, відповідно. Отримані в експериментах дані вказують на те, що інгібування каталази виявляється за менших концентрацій Кадмію і Хрому (VI) в середовищі, ніж концентрації, за яких ці чинники спричиняють пригнічення активності СОД. Такий ефект може зумовлювати дисбаланс у процесах утворення та розкладання H_2O_2 – продукту супероксиддисмутазної реакції. Крім того, джерелом H_2O_2 в клітинах рослин є функціонування пероксидаз, ксантиноксидази, амінооксидаз, які активуються за умов стресу [7, 19]. Збільшення вмісту гідроген пероксиду супроводжується утворенням інших активних форм кисню, стимуляцією процесів ПОЛ і нагромадженням кінцевих продуктів пероксидації, які інгібують активність ензимів, пошкоджують структурні білки та інші біомолекули [31]. Наслідком цих змін може бути порушення метаболізму та функціональної активності клітин.

Порівнюючи інгібувальні ефекти досліджуваних елементів, потрібно зазначити, що пригнічувальний вплив Кадмію на ензими антиоксидантної системи виявляється за меншої концентрації в середовищі порівняно з Плюмбумом і Хромом (VI). За вмісту Кадмію 0,5 мг/л виявляється значне зменшення і супероксиддисмутазної, і каталазної активності в клітинах ряски. Такий ефект узгоджується з даними щодо токсичного впливу Кадмію на інші біохімічні та фізіологічні процеси у водяних рослинах (синтез білків і пігментів, фотосинтез, газообмін) [37, 40].

Згідно з отриманими результатами, Хром (VI) інгібує активність обох досліджуваних ензимів за вмісту 1,0 мг/л у середовищі культивування рослин, тобто за вдвічі більшої концентрації, ніж Кадмій. Такі дані свідчать про меншу, порівняно з Кадмієм, токсичність Хрому (VI) щодо рослин [30]. Вважають, що стійкість рослин до Хрому може зумовлюватися відновленням Cr (VI) до стабільної та нетоксичної форми – Cr (III) на поверхні клітин та у внутрішньоклітинному середовищі [15]. Однак процес відновлення Cr (VI) у клітинах рослин, як і інших організмів, супроводжується утворенням реакційно активних форм елемента нижчої валентності (зокрема Cr (V)), які можуть діяти як оксиданти, безпосередньо пошкоджуючи клітинні компоненти, або сприяти формуванню активних форм кисню [23, 25]. Тому прояв токсичних ефектів цього елемента може залежати від концентрації у середовищі та рівня абсорбції хромат-аніона в клітинах рослин.

Що стосується Плюмбуму, то за результатами експериментів пошкодjuвальний вплив на антиоксидантний стан клітин унаслідок інгібування каталазної активності виявляється лише за найбільшої із застосованих у наших дослідженнях концентрацій Pb^{2+} у се-

редовищі – 5 мг/л (яка відповідає значенню 50 ГДК). Значна толерантність водяних рослин, зокрема ряски, до токсичної дії катіонів Pb^{2+} установлена і в інших дослідженнях [5, 14, 32]. Такий ефект може зумовлюватися різними механізмами, зокрема, зв'язуванням катіонів Pb^{2+} з компонентами клітинної стінки рослин, індукцією синтезу калози під впливом Плюмбуму [17, 32]. Наявні дані про те, що відкладання цього полісахариду на зовнішньому боці плазматичної мембрани частково блокує проникнення катіонів Pb^{2+} у протопласт клітин [32].

Із отриманих результатів досліджень можна зробити висновок про те, що вплив Кадмію, Плюмбуму і Хрому (VI) на ензими антиоксидантної системи в клітинах ряски істотно залежить від концентрації цих елементів у водному середовищі. За низького рівня Cd^{2+} , Pb^{2+} та $Cr_2O_7^{2-}$ відбувається активація супероксиддисмутази та каталази як одна з адаптаційних реакцій на надходження в клітини та прооксидантний вплив цих іонів, а за високих концентрацій металів ензимна активність пригнічується. Отже, незважаючи на те, що рослини *Lemna minor* L. загалом є стійкими до дії металів і здатними активно накопичувати досліджувані елементи [8, 14, 24], за високих концентрацій Кадмію, Плюмбуму і Хрому (VI) відбувається порушення рівноваги між прооксидантними й антиоксидантними процесами у клітинах. Пригнічення ензимів антиоксидантної системи може бути початковою стадією метаболічних змін, які в подальшому призводять до дестабілізації структури плазматичної мембрани, інгібування синтезу білків і хлорофілу, пошкодження молекул ДНК, некрозу клітин та пригнічення життєздатності рослин.

Разом із тим, стійкість антиоксидантної системи клітин ряски до інгібувальної дії Кадмію, Плюмбуму та Хрому (VI) в широкому діапазоні концентрацій може відігравати важливу роль у ремедіаційних властивостях рослини – здатності до акумуляції цих елементів за наявності їх у природних водоймах та очищення акваторій від забруднення важкими металами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Беспмятнов Г. П., Кротов Ю. А.* Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде: справочник. Л.: Химия, 1985. 304 с.
2. *Мусієнко М. М., Ольхович О. П.* Методи дослідження вищих водних рослин. К.: Київ. ун-т, 2004. 60 с.
3. Сборник санитарно-гигиенических нормативов и методов контроля вредных веществ в объектах окружающей среды. М., 1991. 370 с.
4. *Свестун Р., Циганкова М., Парахіна О., Доценко Т.* Комплексний аналіз стану хімічного забруднення довкілля в різних регіонах України // Донецьк. вісн. Наук. тов-ва ім. Шевченка. 2008. Т. 20. С. 191–199.
5. *Яремко О., Антосяк Г.* Вплив важких металів на активність каталази у клітинах ряски малої (*Lemna minor* L.) // Вісн. Львів. нац. аграр. ун-ту: агрономія. 2012. № 16. С. 62–66.
6. *Aebi H.* Catalase *in vitro* // Methods Enzymol. 1984. Vol. 105. P. 121–176.
7. *Allan A. C., Fluhr R.* Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells // Plant Cell. 1997. Vol. 9. N 9. P. 1559–1572.
8. *Axtell N. R., Sternberg S. P. K., Claussen K.* Lead and nickel removal using *Microspora* and *Lemna minor* // Bioresour. Technol. 2003. Vol. 89. P. 41–48.
9. *Bánfalvi G.* Cellular Effects of Heavy Metals. Springer, 2011. 362 p.
10. *Cabrera L. I., Salazar G. A., Chase M. W.* et al. Phylogenetic relationships of aroids and duckweeds (Araceae) inferred from coding and noncoding plastid DNA // Am. J. Bot. 2008. Vol. 95. N 9. P. 1153–1165.

11. *Chandra P., Kulshreshtha K.* Chromium accumulation and toxicity in aquatic vascular plants // *Bot. Rev.* 2004. Vol. 70. Issue 3. P. 313–327.
12. *Choudhury S., Panda P., Sahoo L., Panda S. K.* Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress // *Plant Signal Behav.* 2013. Vol. 8. N 4. P. e23681.
13. *Deckert J.* Cadmium toxicity in plants: is there any analogy to its carcinogenic effect in mammalian cells? // *Biometals.* 2005. Vol. 18. N 5. P. 475–481.
14. *Dirilgen N.* Mercury and lead: assessing the toxic effects on growth and metal accumulation by *Lemna minor* // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2011. Vol. 74. N 1. P. 48–54.
15. *Espinoza-Quiñones F. R., Martin N., Stutz G.* et al. Root uptake and reduction of hexavalent chromium by aquatic macrophytes as assessed by high-resolution X-ray emission // *Water Res.* 2009. Vol. 43. N 17. P. 4159–4166.
16. *Gill S. S., Tuteja N.* Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2010. Vol. 48. N 12. P. 909–930.
17. *Gupta D. K., Huang H. G., Corpas F. J.* Lead tolerance in plants: strategies for phytoremediation // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2013. Vol. 20. N 4. P. 2150–2161.
18. *Kakkar P., Das B., Viswanathan P. N.* A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase // *Indian J. Biochem. Biophys.* 1984. Vol. 21. N 2. P. 130–132.
19. *Kawano T.* Roles of reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction // *Plant Cell Reports.* 2003. Vol. 21. P. 829–837.
20. *Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. P.265–275.
21. *Lu Q., He Z. L., Graetz D. A.* et al. Uptake and distribution of metals by water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2011. Vol. 18. N 6. P. 978–986.
22. *Marino D., Dunand C., Puppo A., Pauly N.* A burst of plant NADPH oxidases // *Trends Plant Sci.* 2012. Vol. 17. N 1. P. 9–15.
23. *Micera G., Dessi A.* Chromium adsorption by plant roots and formation of long-lived Cr(V) species: An ecological hazard? // *J. Inorganic Biochem.* 1988. Vol. 34. P. 157–166.
24. *Miretzky P., Saralegui A., Fernández Cirelli A.* Aquatic macrophytes potential for simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina) // *Chemosphere.* 2004. Vol. 57. N 8. P. 997–1005.
25. *Myers J. M., Antholine W. E., Myers C. R.* The intracellular redox stress caused by hexavalent chromium is selective for proteins that have key roles in cell survival and thiol redox control // *Toxicology.* 2011. Vol. 281. N 1–3. P. 37–47.
26. *Narain S., Ojha C. S. P., Mishra S. K.* et al. Cadmium and Chromium removal by aquatic plant // *Int. J. Environ. Sci.* 2011. Vol. 1. N 6. P. 1297–1304.
27. OECD guidelines for the testing of chemicals. *Lemna* sp. Growth Inhibition Test. 2006. 22 p.
28. *Perfus-Barbeoch L., Leonhardt N., Vavasseur A., Forestier C.* Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status // *Plant J.* 2002. Vol. 32. P. 539–548.
29. *Pourrut B., Perchet G., Silvestre J.* et al. Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots // *J. Plant Physiol.* 2008. Vol. 165. N 6. P. 571–579.
30. *Prasad M. N. V.* Heavy Metal Stress in Plants: From Biomolecules to Ecosystems. Springer, 2004. 462 p.
31. *Quan L. J., Zhang B., Shi W. W., Li H. Y.* Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network // *J. Integr. Plant Biol.* 2008. Vol. 50. N 1. P. 2–18.

32. Samardakiewicz S., Krzesłowska M., Bilski H. et al. Is callose a barrier for lead ions entering *Lemna minor* L. root cells? // *Protoplasma*. 2012. Vol. 249. N 2. P. 347–351.
33. Samecka-Cymerman A., Kempers A. J. Heavy metals in aquatic macrophytes from two small rivers polluted by urban, agricultural and textile industry sewages SW Poland // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2007. Vol. 53. N 2. P. 198–206.
34. Smiri M., Chaoui A., Rouhier N. et al. Oxidative damage and redox change in pea seeds treated with cadmium // *C. R. Biol.* 2010. Vol. 333. N 11–12. P. 801–807.
35. Valavanidis A., Vlahogianni T., Dassenakis M., Scoullou M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2006. Vol. 64. N 2. P. 178–189.
36. Vardanyan L. G., Ingole B. S. Studies on heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake systems // *Environ. Int.* 2006. Vol. 32. N 2. P. 208–218.
37. Vecchia F. D., La Rocca N., Moro I. et al. Morphogenetic, ultrastructural and physiological damages suffered by submerged leaves of *Elodea canadensis* exposed to cadmium // *Plant Sci.* 2005. Vol. 168. N 2. P. 329–338.
38. Wang X., Son Y. O., Chang Q. et al. NADPH oxidase activation is required in reactive oxygen species generation and cell transformation induced by hexavalent chromium // *Toxicol Sci.* 2011. Vol. 123. N 2. P. 399–410.
39. Wojas S., Ruszczynska A., Bulska E. et al. M. Ca²⁺-dependent plant response to Pb²⁺ is regulated by LCT1 // *Environ. Pollut.* 2007. Vol. 147. P. 275–286.
40. Wolff G., Pereira G. C., Castro E. M. et al. The use of *Salvinia auriculata* as a bioindicator in aquatic ecosystems: biomass and structure dependent on the cadmium concentration // *Braz. J. Biol.* 2012. Vol. 72. N 1. P. 71–77.

Стаття: надійшла до редакції 17.12.13

прийнята до друку 17.03.14

EFFECTS OF CADMIUM, LEAD AND CHROMIUM (VI) ON THE ACTIVITIES OF ENZYMES OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN THE CELLS OF DUCKWEED (*LEMNA MINOR* L.)

O. Bubys, H. Antonyak

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: bubys_o@mail.ru, halyna_antonyak@yahoo.com*

The results of studies of the effect of cadmium (Cd), lead (Pb) and hexavalent chromium (Cr (VI)) on the activities of enzymes of antioxidant system (superoxide dismutase, catalase) in the cells of duckweed (*Lemna minor* L.) under cultivation in laboratory conditions are presented in the article. Content of investigated elements in the cultural medium corresponded to the value of 1–50 maximum allowable concentrations (MAC). It was established that the dynamics of enzymatic activity in plant cells depended on the concentration of the elements in the aquatic environment. In the presence of Cr (VI), Cd and Pb in the range of concentrations 1–4 MAC, 1–10 MAC and 1–20 MAC, respectively, the activities of antioxidant enzymes in the cells of duckweed increased. However, superoxide dismutase activity in duckweed cells was inhibited by Cd and Cr (VI) in concentrations, respectively,

50 MAC and 20–50 MAC, and catalase activity was inhibited by these elements in concentrations, respectively, 20–50 MAC and 10–50 MAC. Lead in the range of investigated concentrations had no inhibitory effect on the activity of superoxide dismutase, and catalase activity was inhibited by 50 MAC of Pb. In general, tolerance of antioxidant enzymes in duckweed to the exposure by studied elements decreased in the order: Pb > Cr (VI) > Cd. The obtained results suggest that the stability of the antioxidant system of duckweed cells to inhibitory action of Cd, Pb and Cr (VI) can play an important role in remediating properties of *Lemna minor* L. and in its capacity for accumulation of these elements from aqueous environment at a significant concentration range.

Keywords: duckweed, *Lemna minor* L., cadmium, lead, chromium (VI), maximum allowable concentration, antioxidant system, superoxide dismutase, catalase.

ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ, СВИНЦА И ХРОМА (VI) НА АКТИВНОСТЬ ЭНЗИМОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КЛЕТКАХ РЯСКИ (*LEMNA MINOR* L.)

О. Бубис, Г. Антоняк

Львовский национальный университет имени Ивана Франко

ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

e-mail: bubys_o@mail.ru, halyna_antonyak@yahoo.com

В статье приведены результаты исследований влияния Кадмия (Cd), Свинца (Pb) и Хрома (Cr (VI)) на активность энзимов антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы, каталазы) в клетках ряски малой (*Lemna minor* L.) за культивирование растения в лабораторных условиях. Содержание исследуемых элементов в среде культивирования отвечало значениям 1–50 ПДК. Установлено, что динамика энзимной активности в клетках растения зависит от концентрации исследуемых элементов в водной среде. При наличии Хрома (VI), Кадмия и Свинца в диапазоне концентраций, соответственно, 1–4 ПДК, 1–10 ПДК и 1–20 ПДК активность антиоксидантных ферментов в клетках ряски растет. Однако супероксиддисмутазная активность клеток ряски подавляется при содержании Кадмия и Хрома (VI), соответственно, 50 ПДК и 20–50 ПДК, а каталазная активность – при содержании этих элементов, соответственно, 20–50 ПДК и 10–50 ПДК. Свинец в указанных концентрациях не оказывает ингибирующего влияния на активность супероксиддисмутазы, а каталазную активность подавляет при наличии в среде на уровне 50 ПДК. Всего толерантность антиоксидантных ферментов в растениях ряски к воздействию исследуемых элементов уменьшалась в ряду: Свинец > Хром (VI) > Кадмий. Полученные результаты свидетельствуют, что устойчивость антиоксидантной системы клеток ряски малой к ингибирующему действию Кадмия, Свинца и Хрома (VI) может играть важную роль в ремедиационных свойствах растения и способности к аккумуляции этих элементов при наличии их в водной среде в значительном диапазоне концентраций.

Ключевые слова: ряска, *Lemna minor* L., Кадмий, Свинец, Хром (VI), ПДК, антиоксидантная система, супероксиддисмутаза, каталаза.