Науковий вісник Ужгородського університету
Серія Біологія, Випуск 27, 2010: 115–120
© Кияк Н. Я., 2010

УДК 582.32:54.06

ВПЛИВ СВИНЦЮ НА СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ХЛОРОПЛАСТАХ МОХУ *FONTINALIS ANTIPYRETICA* HEDW.

Кияк Н. Я.

Вплив свинцю на стан прооксидантно-антиоксидантної системи в хлоропластах моху Fontinalis antipyretica Hedw. — Н. Я. Кияк. — *Досліджено вплив ацетату свинцю на вміст фотосинтетичних пігментів та розвиток оксидного стресу в ізольованих хлоропластах моху F. antipyretica. Показано, що внесення ацетату свинцю (0,1–1,0 мкМ) у середовище інкубації хлоропластів спричинює деградацію хлорофілів, індукує процеси перекисного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків.*

Ключові слова: *свинець, ізольовані хлоропласти, показники оксидного стресу.*

Адреса: *Інститут екології Карпат НАН України, вул. Стефаника, 11, Львів, 79000*

Influence of lead on the state of preoxidative and antioxidative system in chloroplasts of the moss Fontinalis antipyretica Hedw. — N. Kyjak. — *Influence of lead acetate on the content of photosynthetic pigments and on the development of oxidative stress in isolated chloroplasts of moss F. antipyretica was investigated. It was shown, that adding of lead acetate (0,1–1,0 μM) in chloroplasts incubation medium caused chlorophylls degradation, induced the lipid peroxidation processes and oxidative modification of proteins.*

Key words: *lead, isolated chloroplasts, parameters of oxidative stress.*

Address: *Institute of Ecology of the Carpathian, National Academy of Sciences of Ukraine, 11 Stefanyk St., Lviv, 79000, Ukraine*

Вступ

Більшість компартментів рослинної клітини є потенційними джерелами активних форм кисню (АФК). Серед них особливе місце займають хлоропласти, де зосереджена досить висока концентрація кисню. Дія стресових факторів (посуха, спека, охолодження, важкі метали, засолення) обмежує фіксацію CO_2, зменшуючи споживання НАДФН у циклі Кальвіна. Електронтранспортний ланцюг у хлоропластах стає надвідновленим, утворюючи супероксидні радикали та синглетний кисень [32]. Тому надлишок кисню та високоенергетичні реакції переносу електронів, асоційовані з мембранами тилакоїдів, є головним джерелом високоактивних кисневих інтермедіатів у фотосинтезуючих тканинах рослин. У хлоропластах виникнення супероксидного аніону відбувається як у фотосистемі I (в основному за участю феродоксину), так і у фотосистемі II (у процесі фотоокислення води). Джерелом супероксидного радикалу у цих структурах може бути і ключовий фермент фіксації CO_2 – рибулозобіфосфаткарбоксилаза. Крім того, встановлено, що ефективним генератором синглетного кисню є хлорофіли, тому в рослинних клітинах завжди існує небезпека ушкоджувальної дії на ці пігменти [10].

АФК за рахунок здатності неконтрольовано реагувати з білками, ліпідами та нуклеїновими кислотами зумовлюють виникнення низки деструктивних процесів: фотоокислення хлорофілу, пероксидного окислення ацильних ліпідів (ПОЛ) та сульфгідрильних груп білків хлоропластних мембран, порушення структури хлоропластної ДНК [13].

Вторинний оксидний стрес, індукований важкими металами вивчали переважно на квіткових рослинах. Мохи у цьому відношенні досліджені набагато слабше, хоча особливості їх анатомо-морфологічної структури та висока сорбційна здатність щодо іонів металів зумовили використання бріофітів як модельних об’єктів для дослідження морфо-фізіологічних та геномних змін, спричинених дією важких металів [18, 21]. Вивчення впливу полютантів на фізіолого-біохімічні процеси мохів важливе також у зв'язку з їх різною екологічною приуроченістю та використанням як біоіндикаторів забруднення атмосферного та водного середовищ [30]. Крім того, відомо, що фотосинтетичний апарат мохів дуже чутливо реагує на підвищення рівня атмосферного забруднення середовища полютантами, а зміна вмісту хлорофілу використовується багатьма дослідниками для біоіндикації довкілля як окремими токсикантами, так і їх комплексами [8].

У зв’язку з цим метою нашої роботи було з’ясування особливостей мінливості основних показників прооксидантно-антиоксидантної системи в ізольованих хлоропластах моху *Fontinalis antipyretica* Hedw. під впливом іонів свинцю.

Об'єкти та методи досліджень

Об'єктом дослідження були дернини водного моху *F. antipyretica*. Для аналізу використовували пагони, вирощені в лабораторній культурі у контрольованих умовах температури (20–22^0), вологості (85–90%) та освітлення (2500 лк) [5]. Рослини розділяли на 2 групи. Пагони *F. antipyretica* першої групи занурювали на 2 год у розчини ацетату свинцю з концентрацією 0,01–1,0 мкМ, після чого виділяли хлоропласти. Із пагонів другої групи спочатку виділяли хлоропласти і на 2 год вносили оцтовокислий свинець у середовище їх інкубації. Рослини контролю експонували у дистильованій воді.

Хлоропласти виділяли за методом В. Гавриленко [3]. Вміст пігментів у суспензії хлоропластів визначали у 80%-ому ацетоні за методом Д. Арнона [17]. Варіанти контрольної та дослідних суспензій вирівнювали за вмістом хлорофілу. Отримані хлоропласти використовували для наступного визначення біохімічних параметрів.

Для визначення активності супероксиддисмутази (СОД) суспензію хлоропластів екстрагували протягом 30 хв у 0,15 М фосфатному буфері (pH 7,8). 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. [15].

Реакційна суміш для визначення активності глутатіонредуктази (ГР) містила: 0,05 мл ферментного препарату, 0,2 М К-фосфатний буфер (pH 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 $НАДФН_2$ на 1 г білка за 1 хв. [34].

Для визначення вмісту відновленого глутатіону (Г-SH) використовували реакційну суміш, що 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 $НАДФН_2$ на 1 мл суспензії хлоропластів [34].

Для визначення вмісту малонового диальдегіду (МДА) суспензію хлоропластів розчиняли 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 МДА на 1 мл суспензії хлоропластів [11].

Для визначення вмісту карбонільних груп (КГ) білків до суспензії хлоропластів додавали 10 мМ розчин 2,4-динітрофенілгідразину та інкубували протягом 1 год при кімнатній температурі. Суміш центрифугували (10 хв, 5000 g), 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 $М^{-1}·см^{-1}$ та виражали в мкМ на мг білка [9]. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорда [23].

Усі досліди проводили у 3-кратній повторності. Отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу [12].

Результати досліджень та їх обговорення

Вивчаючи вплив іонів важких металів на хлоропласти потрібно враховувати, що ці полютанти можуть порушувати роботу фотосинтетичного апарату не лише внаслідок індукування процесу вільнорадикального окислення, а й спричиняючи деградацію хлорофілів [20]. Тому в наших дослідах ми проаналізували зміни вмісту пігментів у середовищі інкубації хлоропластів за дії оцтовокислого свинцю і встановили, що важкий метал призводив до зниження вмісту хлорофілів *a* та *b*. Внесення ацетату свинцю у середовище інкубації хлоропластів індукувало зниження кількості хлорофілу *a* майже на 65%, хлорофілу *b* – на 40%, порівняно з контрольним варіантом. Хлоропласти, виділені з оброблених металом рослин, пошкоджувалися меншою мірою, оскільки вміст хлорофілу *a* знижувався, приблизно, на 35%, хлорофілу *b* – на 30 – 33% (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив ацетату свинцю на вміст пігментів у суспензії ізольованих хлоропластів моху *F. antipyretica*

Table 1. Influence of lead acetate on the content of pigments in suspension of isolated chloroplasts of the moss *F. antipyretica*

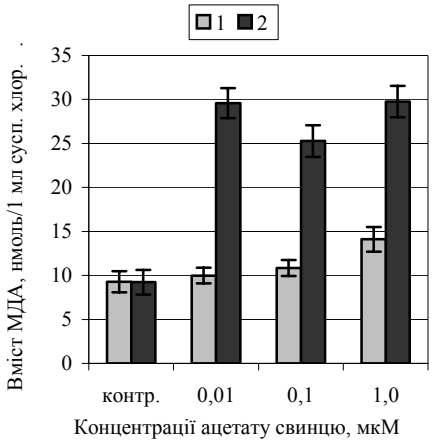
Концентрація ацетату свинцю, мкМ	Вміст хлорофілу *a*, мг/г сирої маси		Вміст хлорофілу *b*, мг/г сирої маси		Вміст каротиноїдів, мг/г сирої маси	
	1*	2	1	2	1	2
контроль	1,03±0,05	1,07±0,06	0,61±0,03	0,58±0,03	0,06±0,001	0,05±0,006
0,01	0,61±0,03	0,42±0,01	0,43±0,02	0,33±0,01	0,05±0,003	0,08±0,002
0,10	0,65±0,02	0,34±0,02	0,39±0,04	0,34±0,03	0,07±0,004	0,15±0,010
1,00	0,68±0,02	0,49±0,01	0,41±0,02	0,39±0,02	0,05±0,003	0,14±0,020

Примітка: * – тут і далі, в табл. 2, наступні варіанти досліду: 1 – обробка пагонів ацетатом свинцю перед виділенням хлоропластів; 2 – внесення розчину ацетату свинцю у середовище інкубації хлоропластів

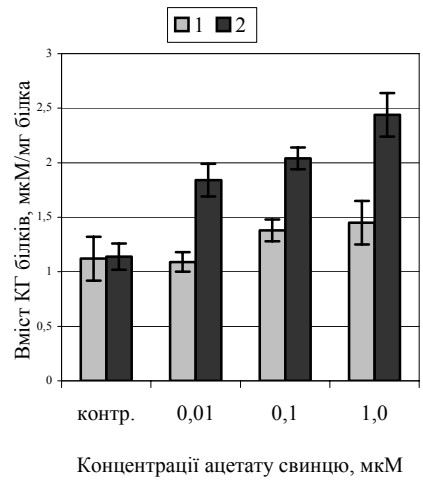
Зменшення кількості хлорофілу могло бути результатом пригнічення процесів біосинтезу та деградації пігменту, оскільки відомо, що іони важких металів інгібують біосинтез хлорофілу на рівні утворення 5-амінолевуленової кислоти, а також пригнічують синтез протохлорофілідредуктази [35]. Наші результати свідчать, що вміст хлорофілів суттєво залежав від способу внесення солі свинцю, оскільки хлоропласти, виділені з оброблених металом рослин, менше пошкоджувалися металом. Чітка відмінність між дослідними варіантами встановлена й у випадку визначення кількості каротиноїдів. Згідно з нашими експериментальними даними, у хлоропластах, виділених з оброблених ацетатом свинцю рослин, вміст каротиноїдів зберігався на рівні контрольного варіанту незалежно від дози важкого металу. У випадку внесення солі свинцю у концентраціях 0,1–1,0 мкМ в середовище інкубації хлоропластів встановлено підвищення концентрації каротиноїдів майже утричі, порівняно з контролем (рис. 2). Таке значне зростання вмісту каротиноїдів може бути пов'язане з антиоксидантими властивостями цих пігментів. Відомо, що вони у хлоропластах виконують функцію гасників синглетного кисню та вільних радикалів. Причому, дія каротиноїдів є настільки ефективною, що практично кожне їх зіткнення з триплетами збуджених молекул хлорофілу чи з $^1O_2$ призводить до повної дезактивації цих сполук [27]. Можна припустити, що в ізольованих хлоропластах моху *F. antipyretica* іони свинцю індукували підвищення кількості АФК, що й стало причиною зростання вмісту каротиноїдів. Вивчення дії високоактивних кисневих радикалів як регуляторів біосинтезу каротиноїдів у хромопластах показало [22], що вони індукують експресію множинного каротиногенного гена, виконуючи функцію вторинних месенджерів, які ініціюють синтез каротиноїдів.

Отже, результати наших експериментів свідчать, що внесення ацетату свинцю в середовище інкубації хлоропластів суттєво впливає на фотосинтетичні пігменти. Т. Сакакі [33], вивчаючи дію абіотичних стресових факторів на хлоропласти встановив, що першою фазою оксидаційних пошкоджень є початок зменшення вмісту хлорофілів. Під час другої фази спостерігали значну деструкцію пігментів та ліпідів, яка супроводжувалася різким підвищенням вмісту МДА. У наших дослідах концентрація цього кінцевого продукту ПОЛ теж підвищувалася за дії металу (рис. 1, а). За умов обробки пагонів фонтіналіса розчином металу з наступним виділенням хлоропластів вміст МДА зростав в 1,3-1,5 разів, а внесення ацетату свинцю в середовище інкубації хлоропластів суттєво стимулювало процес ПОЛ, оскільки вміст МДА підвищувався майже у 3 рази, порівняно з контролем.

Модифікації АФК піддаються не тільки ліпіди, а й білки, причому, окислені білки практично не відновлюються [26]. Первинні кисневі радикали взаємодіють із залишками амінокислот білків, які модифікуються, утворюючи кето- та альдопохідні, а також інші продукти. На сьогодні існують численні публікації, у яких показано позитивну кореляцію між процесами окисної модифікації білків і ліпідів [7]. У таких модифікованих білків змінюється функціональна активність, вони деградуються протеолітичними ферментами і, разом з тим, можуть слугувати джерелом вільних радикалів.



а



б

Рис. 1. Вплив ацетату свинцю на вміст МДА (а) та карбонільних груп білків (б) у суспензії ізольованих хлоропластів моху *F. antipyretica*. Умовні позначення: 1 – обробка пагонів моху ацетатом свинцю перед виділенням хлоропластів; 2 – внесення ацетату свинцю у середовище інкубації хлоропластів

Fig. 1. Influence of lead acetate on the content of malonic dialdehide (a) and carbonylproteins (b) in suspension of isolated chloroplasts of the moss *F. antipyretica*. Conventional signs: 1 – treatment of moss shoots by the lead acetate before chloroplasts separation; 2 – adding of lead acetate in the chloroplasts incubation medium

Використаний нами метод дослідження окисної модифікації білків базується на взаємодії 2,4-динітрофенілгідразину з альдегідними і кетонними групами у бічних ланцюгах амінокислот. Як пока-

зник окисної модифікації білків використовували вміст карбонільних груп (КГ) білків [9]. У наших експериментах іони свинцю індукували підвищення вмісту КГ білків, причому, як і у випадку з МДА, значна кількість цих сполук утворювалася за безпосередньої взаємодії солі металу з хлоропластами – майже у 2 рази більше, порівняно з контролем (рис. 1, б).

Отже, поряд зі значною активацією ПОЛ, у хлоропластах *F. antipyretica* зростав рівень карбонільної модифікації білків, чому могли сприяти і продукти вільнорадикального окислення ліпідів, які діють на білки як сильні окислювачі. Інтенсифікація окислювальних процесів за внесення солі важкого металу у середовище інкубації хлоропластів могла бути спричинена зниженням активності системи антиоксидантного захисту, яка нормально функціонує у цілісному рослинному організмі.

Дослідження проблеми адаптації рослин до дії стресових впливів різної природи пов'язане з вивченням механізмів захисту фотосинтетичного апарату. Однією з його захисних ланок є антиоксидантна ферментативна система. У зв'язку з цим, ми дослідили активність основних компонентів антиоксидантної системи хлоропластів за дії іонів свинцю. Відомо, що СОД є першою лінією захисту проти впливу супероксидного радикалу у хлоропластах [16]. Тут локалізовані Cu/Zn-СОД та Fe-СОД [24]. Крім того, у знешкодженні кисневих радикалів у хлоропластах важливу роль відіграють ферменти аскорбатпероксидаза, глутатіонредуктаза (ГР) та низькомолекулярні сполуки – відновлений глутатіон (Г-SH) та аскорбат, які у високих концентраціях присутні у цих клітинних компартментах.

У наших дослідах іони свинцю у концентрації 0,01–0,1 мкМ індукували зростання активності СОД, однак найвищі значення активності встановлено у хлоропластах, виділених з оброблених ацетатом свинцю рослин, – у 1,2 – 1,5 рази вища активність ферменту, порівняно з контролем (табл. 2). Дещо нижча активність встановлена у випадку внесення солі металу у середовище інкубації хлоропластів. Крім того, сублетальна концентрація металу 1,0 мкМ, внесена у суспензію хлоропластів, індукувала зниження активності СОД майже у 1,5 рази, порівняно з контролем, що може бути пов'язане з втратою цілісності рослинного організму та, відповідно, зниженням активності антиоксидантної системи за дії високої дози стресового фактора. Із літературних джерел відомо, що активність СОД в умовах впливу несприятливих факторів може змінюватися різнонаправлено. Суттєве зростання активності цитоплазматичної та хлоропластної СОД було встановлено у випадку впливу іонів цинку на активність ізоферменів СОД у різних субклітинних фракціях листків люцерни [25], на культурі гороху посівного теж було відзначено підвищення активності СОД у хлоропластах під впливом іонів міді та сольового стресу [31]. Дослідження з трансгенними рослинами виявили, що надекспресія Cu/Zn–СОД хлоропластів змінених рослин тютюну збільшує рівень захисту мембран від пошкодження [29]. Зниження активності СОД може відбуватися в умовах досить інтенсивного впливу стресового фактора, як наприклад під впливом важких металів та УФ-опромінення, теплового шоку та водного дефіциту [19]. Причинами зниження активності ферменту може бути виснаження пулу СОД посиленим його використанням для гасіння супероксидних радикалів, а також деградація молекул СОД під впливом гідроксильних радикалів та пероксиду водню [1].

Таблиця 2. Вплив ацетату свинцю на активність компонентів захисної антиоксидантної системи у суспензії ізольованих хлоропластів моху *F. antipyretica*

Table 2. Influence of lead acetate on the activity of components of protective antioxidative system in suspension of isolated chloroplasts of the moss *F. antipyretica*

Концентрація ацетату свинцю, мкМ	Активність СОД, ум. од./мг білка/ хв.		Активність ГР, мкМ НАДФН/г білка/ хв.		Вміст Г-SH, мкМ НАДФН/ мл сусп.	
	1*	2	1	2	1	2
контроль	129,9±9,3	130,2±7,3	16,3±0,7	16,5±0,9	2,8±0,1	2,7±0,09
0,01	231,8±7,4	182,1±8,4	20,4±0,6	19,2±0,7	8,1±0,1	3,6±0,20
0,10	210,1±6,4	167,6±9,5	18,1±1,1	22,1±0,9	7,5±0,2	3,1±0,20
1,00	146,5±8,2	83,4±6,8	21,7±0,9	18,1±1,2	8,6±0,3	6,9±0,30

Ацетат свинцю суттєво впливав і на вміст одного з основних низькомолекулярних антиоксидантів хлоропластів – відновленого глутатіону (Г-SH). У хлоропластах, виділених з оброблених важким металом рослин, вміст цієї сполуки підвищувався майже утричі, порівняно з контролем. Причому, така тенденція встановлена за дії усіх концентрацій свинцю. Згідно з літературними даними, глутатіон відіграє провідну роль у захисті клітин на ранніх стадіях оксидного стресу [6]. Крім того, на різних об'єктах показано одночасне підвищення синтезу глутатіону та зростання активності СОД у відповідь на дію екзогенного пероксиду водню та інших токсикантів, що індукують оксидний стрес [6, 14]. Існує гіпотеза, що інтермедіати окисновідновного метаболізму глутатіону можуть виконувати тригерну функцію: індукувати синтез СОД за збільшення концентрації донорів електронів, або пригнічувати активність цього фермента при накопиченні акцепторів. Активація СОД може бути пов'язана з відновленням міді сульфгідрильними сполуками [4]. У наших дослідах лише у хло-

ропластах, виділених із листків *F. antipyretica* після обробки важким металом, чітко простежувалася позитивна кореляція між активністю СОД та концентрацією Г-SH. Унаслідок внесення ацетату свинцю у середовище інкубації хлоропластів вміст відновленої форми глутатіону зберігався на рівні контролю і лише сублетальна концентрація металу індукувала зростання його вмісту у 2,5 рази (табл. 2).

Глутатіон у хлоропластах підтримується у відновленому стані за допомогою НАДФ-залежного ферменту глутатіонредуктази (ГР), яка теж відіграє важливу роль у антиоксидантному захисті хлоропластів. Результати, отримані за допомогою трансгенних рослин тополі свідчать [28], що надекспресія глутатіонредуктази у хлоропластах посилювала антиоксидантну активність листків та можливість витримувати оксидний стрес. Співставлення динаміки активності ГР та вмісту Г-SH у наших дослідах свідчить, що зростання кількості відновленого глутатіону узгоджувалося з підвищенням активності ферменту (майже в 1,3–1,5 разів, порівняно з контролем) (табл. 2). Тобто, процес поповнення пулу Г-SH у хлоропластах проходить активно і не залежить від способу внесення важкого металу.

Отже, ми встановили, що внесення ацетату свинцю в інкубаційне середовище хлоропластів призводить до цілого ряду негативних наслідків: спричинює деградацію хлорофілів, індукує процеси пероксидації ліпідів мембран та окислювальної модифікації білків. У подальшому це може призвести до гальмування процесів фотосинтезу, зниження активності ферментів, пригнічення синтезу хлоропластних білків. Відомо, що мембрани хлоропластів характеризуються високим, порівняно з іншими мембранами, вмістом білка [2]. У зв'язку з тим, ферменти мембран хлоропластів можуть бути чутливішими до окислювальних процесів, індукованих іонами свинцю. Інтенсифікація оксидного стресу в ізольованих хлоропластах може бути зумовлена зниженням активності компонентів антиоксидантної системи, які нормально функціонують у цілісній клітині. Адже рослинну клітину можна розглядати як комплекс взаємозв'язаних компартментів з різними ємкостями антиоксидантних буферів (або антиоксидантного контролю) [14]. Для нормальної життєдіяльності клітини необхідна узгодженість роботи усієї антиоксидантної системи. Низькомолекулярні антиоксиданти аскорбат, глутатіон і токоферол, на думку С. Фойєр [29] виконують в клітині функцію інформаційно багатих буферних систем, котрі взаємодіють з численними компартментами клітини. Крім того, вони впливають на експресію генів. СОД інактивує супероксидні радикал-іони, каталаза, пероксидази та аскорбатпероксидаза інактивують пероксид водню. Таким чином, антиоксидантна система створює динамічну метаболічну взаємодію між сприйняттям стресу рослинною клітиною та фізіологічною відповіддю. Підтвердженням цього стали результати наших дослідів із хлоропластами, виділеними з оброблених ацетатом свинцю рослин *F. antipyretica*. Вони значно менше пошкоджувалися в умовах свинцевого стресу, оскільки рівні ПОЛ та окислювальної модифікації білків були значно нижчі, ніж у дослідах з внесенням важкого металу у середовище інкубації хлоропластів. Антиоксидантний захист у цілісному організмі спрацьовував значно ефективніше, про що свідчать покази активності СОД та вмісту відновленого глутатіону. Очевидно, саме взаємодія різних компонентів антиоксидантної захисної системи на різних етапах реакції на стрес гальмує процеси ПОЛ мембран хлоропластів і забезпечує стійкість фотосинтетичного апарату рослини до окислювальних ушкоджень за дії важкого металу.

Висновки

1. Ацетат свинцю у концентраціях 0,01–1,0 мкМ індукував розвиток оксидного стресу в ізольованих хлоропластах моху *F. antipyretica.*

2. Внесення свинцю у середовище інкубації хлоропластів спричиняло деградацію хлорофілів, індукувало процеси ПОЛ та окислювальної модифікації білків більшою мірою, ніж у хлоропластах, виділених з оброблених ацетатом свинцю рослин.

3. Функціонування компонентів антиоксидантної системи (СОД, відновленого глутатіону) в ізольованих хлоропластах моху *F. antipyretica* залежало від способу обробки важким металом і послаблювалося в умовах внесення ацетату свинцю у середовище інкубації хлоропластів.

1. *Бараненко В. В.* Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. – 2006. – 48, № 6. – С. 465 – 475.

2. *Бацманова Л. М.* Особливості оксидативного стресу, індукованого екзогенним пероксидом водню, в ізольованих хлоропластах // Физиол. и биохим. культ. растений. – 2008. – Т. 40, № 5. – С. 441 – 447.

3. *Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М.* Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. – М.: Высш. школа, 1975. – 392 с.

4. *Гришко В. Н., Сищиков Д. В.* Процеси перекисного окиснення ліпідів та функціонування деяких антиоксидантних ферментативних систем у кукурудзи при дії HF // Доп. НАН України. – 2000. – № 2. – С. 191 – 195.

5. *Демкив О. Т., Сытник К. М.* Морфогенез архегониат. – Киев: Наук. думка, 1985. – 204 с.

6. *Кения М. В., Лукаш А. И., Гуськов Е. П.* Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи соврем. биол. – 1993. – Т. 113, вып. 4. – С. 465 – 470.

7. *Климишин Н., Старикович Л., Клевета Г.* та ін. Окиснювальна модифікація ліпідів і білків за дії низькоінтенсивного рентгенівського опромінення // Вісник Львів. Ун-ту. Серія біологічна. – 2007. – № 45. – С. 63 – 70.

8. *Кравкина И. М.* Влияние атмосферных загрязнителей на ультраструктуру листьев // Укр. ботан. журн. – 1991. – Т. 76, № 1. – С. 3 – 9.

9. *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.

10. *Мерзляк М. Н.* Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и те-

хники. Сер. «Физиология растений». М.: ВИНИТИ. – 1989. – 167 с.
11. *Мусиенко М. М., Паршикова Т. В., Славный П. С.* Спектрофотометрические методы в практике физиологии, биохимии и экологии растений. – К.: Фитосоциоцентр, 2001. – 200 с.
12. *Плохинский Н. А.* Биометрия. – М.: Изд-во МГУ, 1970. – 367 с.
13. *Стороженко В. О., Шадчина Т. М.* Активність супероксиддисмутази та аскорбатпероксидази в хлоропластах листків ярої пшениці за умов натрійхлоридного засолення грунту // Физиол. и биохим. культ. растений. – 2004. – Т. 36, № 4. – С. 315 – 319.
14. *Трач В. В., Стороженко В. А.* Супероксиддисмутаза как компонент антиоксидантной системы растений при абиотических стрессовых воздействиях // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, № 4. – С. 291 – 302.
15. *Чвари С., Андял Т., Штренгер Я.* Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело. – 1991. – № 3. – С. 95 – 99.
16. *Allen R. D., Webb R. P., Schake S. A.* Use of transgenic plants to study antioxidant defenses // Free Radic. Biol. Med. – 1997. – Vol. 23, №3. – P. 473 – 479.
17. *Arnon D.* Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris* // Plant Physiol. – 1949. – № 24. – P. 1 – 15.
18. *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.
19. *Barka E. A.* Protective enzymes against reactive oxygen species during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits in response to low amounts of UV-C. // Austr. J. Plant Physiol. – 2001. – Vol. 28. – P. 785–791.
20. *Baszynski T.* Interference of Cd^{2+} in functioning of the photosynthetic apparatus of higher plants // Acta Soc. bot. pol. – 1980. – Vol. 48, № 4. – P. 291 – 301.
21. *Bassi P.* Effect of lead on nuclear repetitive DNA of the moss *Funaria hygrometrica* (Funariales) // Ann. Bot. – 1995. – № 87. – P. 537 – 534.
22. *Bouvier F., Backhaus R. A., Camara B.* Induction and control of chromoplast-specific carotenoid genes by oxidative stress // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273, № 46. – P. 30651 – 30659.
23. *Bredford W.* A simple method for protein test // Annal. Biochem. – 1976. – № 72. – P. 248 – 252.
24. *Bueno P., Varela J., Gimenes-Gallego G. et al.* Peroxisomal copper, zinc superoxide dismutase. Characterization of the isoenzyme from watermelon cotyledons // Plant Physiol. – 1995. – Vol. 108, № 3. – P. 1151 – 1160.
25. *Christov K., Bakardjieva N.* Subcellular distribution of superoxide dismutase isoforms in lucerne leaves (*Medicago rigidula*) and effect of calcium and zink ions // Докл. Бълг. АН. – 1999. – Vol. 52, № 3–4. – С. 89 – 92.
26. *Dean R. T., Hunt J. V., Grant A. J. et al.* Free radicals damage in proteins: the influence of the relative localization of radical generation, antioxidants and target proteins // Free Radical Biol. Med. – 1991. – № 11. – P. 161 – 168.
27. *Foyer C. H., Harbinson J.* Relationships between antioxidant metabolism and carotenoids in the regulation of photosynthesis // The photochemistry of carotenoids / Eds. H.A. Frank, A.J. Young, R.J. Cordell. – Dordrext, The Netherlands: Kluwer Acad. Publ., 1999. – P. 305 – 325.
28. *Foyer C. H., Souriau N., Perret S. et al.* Overexpression of glutathione reductase but not glutathione synthetase leads to increases in antioxidant capacity and resistance to photoinhibition in poplar trees // Plant Physiol. – 1995. – Vol. 109, № 4. – P. 1047–1057.
29. *Foyer C. H., Noctor G.* Redox homeostasis and antioxidant signaling. A metabolic interface between stress perception and physiological responses // Plant Cell. . – 2005. – Vol. 17, № 5. – P. 1866 – 1876.
30. *Grodzinska K., Szarek–Lukashevska G.* Response of mosses to the heavy metal deposition in Poland – an overview // Environ. Pollut. – 2001. – Vol. 114, № 3. – P. 443 – 451.
31. *Hernandez J. A., Olmos E., Corpas F. J. et al.* Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants // Plant Sci. – 1995. – Vol. 105, № 2. – P. 151 – 167.
32. *Krause G. H.* The role of oxygen in photoinhibition of photosynthesis // Causes of photooxidative stress and amelioration of defence systems in plants / Eds. C. H. Foyer, P. M. Mullineaux. – Boca Raton: CGC Press, 1994. – P. 43–76.
33. *Sakaki T.* Photochemical oxidants: toxicity // Responses of plant metabolism to air pollution and global change / Eds. L.J. De Kok, J. Stulen. – Leiden, The Netherlands: Backhuys Publ., 1998. – P. 117 – 129.
34. *Smith J., Vierhgelle T. L., Throne C. A.* Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenate using 5,5r-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) // Annal. Biochem. – 1988. – № 175. – P. 408 – 413.
35. *Stobart A. K., Grifiths W. T., Ameen-Bukhari L. et al.* The effect of Cd^{2+} on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley // Physiol. Plant. – 1995. – Vol. 63, № 6. – P. 293 – 295.

Отримано: 25 серпня 2009 р.
Прийнято до друку: 4 лютого 2010 р.