

УДК 574.24

ВЛИЯНИЕ КСЕНОБИОТИКОВ НА СОДЕРЖАНИЕ МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ ВОДНОГО ПОГРУЖЕННОГО РАСТЕНИЯ *EGERIA Densa*

© 2011 И.Р. Мурзин¹, А.А. Косицына¹, О.А. Розенцвет², О.Н. Макурина³

¹Самарский государственный областной университет (Наяновой), г. Самара

²Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти

³Самарский государственный университет, г. Самара

Поступила 14.06.2010

Проведены исследования влияния различных концентраций синтетических моющих средств и ионов металла (Cd^{2+}) на содержание мембраносвязанных белков в тканях водного погруженного растения *Egeria densa*. Выявлены достоверные отличия в содержании белков контрольной и опытных групп. Предположены возможные механизмы ответной реакции объекта исследования на воздействия поллютантов разной химической природы.

Ключевые слова: *Hydrocharitaceae*, водные растения, тяжелые металлы, ПАВ, мембраносвязанные белки

По специфическим формам воздействия и масштабам последствий, возросшим особенно в последние десятилетия, антропогенные факторы загрязнения окружающей среды заслуживают выделения в особую значимую группу ксенобиотиков [6]. Изменения, вносимые человеком в окружающую среду, происходят значительно быстрее, чем естественные. Особенно это касается водоемов, основными источниками загрязнения которых являются промышленные, сельскохозяйственные и хозяйственно-бытовые стоки. Водосбросы содержат целый спектр неорганических и органических веществ, в том числе пестицидов, минеральных удобрений, детергентов, тяжелых металлов [2]. Погруженная растительность наиболее четко отражает общее состояние водоемов и изменение экологических условий в них [1, 5].

К настоящему времени достаточно много известно о токсическом эффекте ксенобиотиков на различные виды организмов, но практически отсутствуют данные о возможности выведения поллютантов из организмов водных высших растений.

Токсическое действие ксенобиотиков проявляется у организмов и на тканевом, и на клеточном уровне. Первой мишенью действия поллютантов являются биологические мембраны [7].

Известно, что в состав мембран входят и структурные белки, и ферментные системы, и рецепторные комплексы. Под действием многих факторов белки мембран претерпевают существенные изменения, приводящие к нарушению метаболических процессов внутри клетки [4].

В связи с этим целью нашей работы явилось исследование влияния двух концентраций ионов кадмия (водные растворы нитрата кадмия – 10 и 100 мг/моль) и анионного синтетического поверхностно-активного вещества (СПАВ) на со-

держание мембраносвязанных белков (МСБ) в тканях водного погруженного растения *Egeria densa*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования был выбран пресноводный макрофит элодея бразильская (*Eloдея brazilian*, *Egeria densa*), принадлежащий к семейству водокрасовых (*Hydrocharitaceae*), порядку частуховых (*Alismatales*), подклассу алисматид (*Alismatidae*), классу однодольных (*Monocotyledones*). Это многолетнее растение с длинным облиственным, ветвистым стеблем, достаточно ломким, который стелется по дну (укореняется) или плавает в толще воды [8].

Опыт проводился в лабораторных условиях в резервуарах с водой при постоянной интенсивности и регулярности светового потока, а также при постоянной температуре.

Для проведения эксперимента растения были разделены на несколько групп. Контрольную группу растений помещали в резервуары (1 дм³) с отстоянной водой. Опытные группы инкубировали в присутствии нитрата кадмия в концентрациях 10 и 100 мг/моль, либо в присутствии анионных СПАВ в концентрациях 0,01%, 0,1% и 1%. В качестве СПАВ использовали средство для мытья посуды «Dosa».

Продолжительность воздействия выбранных нами поллютантов составила 1, 3 и 10 суток. По истечении указанных периодов экспозиции половину растений из каждой группы использовали для проведения биохимических анализов. Вторую половину переносили в чистую отстоянную отфильтрованную воду (реабилитация). Длительность реабилитации составляла 5 суток.

В тканях исследованных растений определяли содержание мембраносвязанных белков по методу Брэдфорда [9]. Для экстракции МСБ осуществляли с применением детергента Тритона X-100 и дальнейшим разделением центрифугированием при 8000 г.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием стандартных статистических методов. Достоверность различий из-

Мурзин Илья Радикович, аспирант, e-mail: dekanat.05.54@mail.ru; Косицына Арина Алексеевна, аспирант, e-mail: dekanat.05.54@mail.ru; Розенцвет Ольга Анатольевна, докт. биол. наук, e-mail: olgarozen@pochta.ru; Макурина Ольга Николаевна, докт. биол. наук, e-mail: dekanat.05.54@mail.ru

меряемых величин между контрольными и опытными вариантами оценивали на основании *t*-критерия Стьюдента при доверительном интервале $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как отмечалось ранее, по изменению содержания МСБ можно судить о степени и характере воздействия ксенобиотика на организм. Исследование влияния ионов кадмия на *E. densa* показало, что содержание МСБ опытных групп растений заметно отличается от такового контрольной группы. Так, через сутки воздействия 10 и 100 мкМ ионов кадмия количество белков в опытных группах растений было ниже, чем в контрольной группе в 3,5 и 1,3 раза соответственно (рис. 1). На третьи сутки эксперимента содержание белков в тканях первой опытной группы (10 мкМ) превышало таковое в контрольных растениях в 2,6 раза, а к десятым суткам – в 7,0 раз. В случае с опытной группой растений, которая находилась в воде с большей концентрацией кадмия (100 мкМ), содержание МСБ на третьи сутки эксперимента в 2,3 раза ниже содержания в тканях контрольных растений, но к десятым суткам становилось выше контрольных значений в 2 раза.

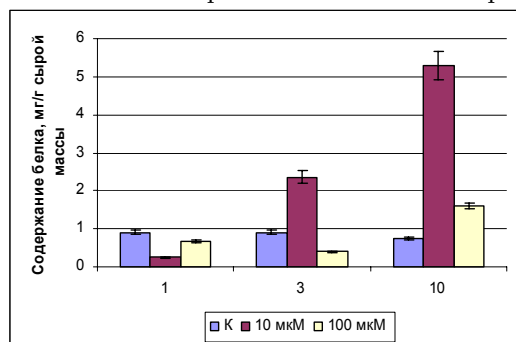


Рис. 1. Содержание мембраносвязанных белков в тканях водного растения *E. densa* в период инкубации с добавлением соли кадмия: на оси X – периоды воздействия (сутки)

На наш взгляд, выявленная закономерность объясняется тем, что при небольших концентрациях ионов кадмия в воде (10 мкМ) организм растений синтезирует достаточные количества мембранных рецепторов, способных связывать ионы металла. По мнению ряда авторов [2], возможен и другой механизм ответной реакции растений на воздействие металлов – двухвалентные катионы могут активировать гены, ответственные за синтез белков-переносчиков в мембранах, что и является причиной увеличения количества МСБ.

При более длительном контакте растений (10 суток) с большим количеством кадмия (100 мкМ) также наблюдали увеличение концентрации МСБ, однако эта величина была ниже, чем у растений, выращенных на среде, содержащей 10 мкМ ионов кадмия.

Из данных, представленных на рис. 2, видно, что в процессе реабилитации растений после точного воздействия при минимальной концен-

трации кадмия количество белков превышает контрольные значения почти в 2 раза. В процессе реабилитации количество мембранных белков уменьшилось, по сравнению с периодом воздействия, практически вдвое. Если учесть, что при переносе растений в среду без металлов возможно удаление металлов из тканей растений, как было показано в работе [5], то наше предположение относительно механизмов ответной реакции организма растений на уровне регуляции трансляции белков, оказывается верным. То есть, чем меньше металла остается в растениях после реабилитации, тем меньше необходимость в синтезе мембранных транспортных систем, тем менее активно работают гены, ответственные за синтез мембранных канальных и транспортных белков.

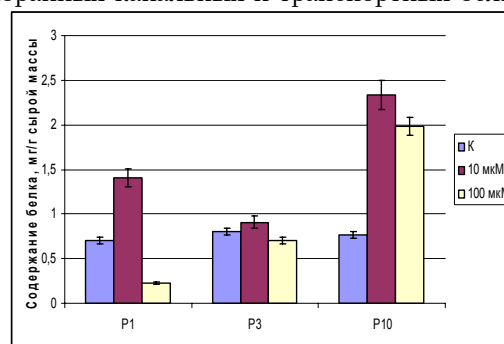


Рис. 2. Содержание мембраносвязанных белков в тканях водного растения *E. densa* в период реабилитации (5 суток после инкубации с добавлением соли кадмия): на оси X – периоды воздействия (сутки)

Механизм токсического действия поверхностно-активных веществ связан с их непосредственным влиянием на структурно-функциональную организацию мембран. Являясь амфифильными молекулами, ПАВы способны солюбилизовать мембранные компоненты и приводить в итоге к нарушению нативной структуры мембраны. Одной из возможных реакций детоксикации поллютантов такого рода считают увеличение содержания белков, которые способны регулировать осмос клетки [10]. Результаты наших экспериментов свидетельствуют в пользу вышесказанного утверждения.

Увеличение продолжительности эксперимента и величины концентрации ПАВ приводило к увеличению содержания общего пула МСБ (рис. 3). Так, начиная с первых суток воздействия ПАВ, количество белков было больше контрольных значений примерно в 3 раза. Наиболее выраженными эти отличия были на 10 сутки, когда концентрация белков мембран в опытных вариантах была выше контрольных более чем в 10 раз.

За период реабилитации у растений, подвергшихся воздействию ПАВ в течение 3 суток, содержание МСБ увеличилось еще больше по сравнению с этими же растениями до прохождения реабилитации (рис. 4). Интересно отметить, что особенно яркие изменения были характерны для ПАВов средних и высоких концентраций. Необходимо учесть тот факт, что средние concentra-

ции ПАВ и есть те самые концентрации, наиболее часто встречающиеся в сточных водах и попадающие в природные объекты.

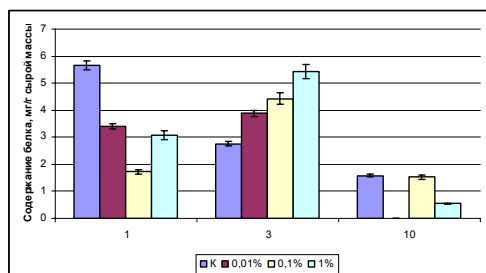


Рис. 3. Содержание мембраносвязанных белков в тканях *E. densa*, выросшей на растворах СПАВ: на оси X – периоды воздействия (сутки)

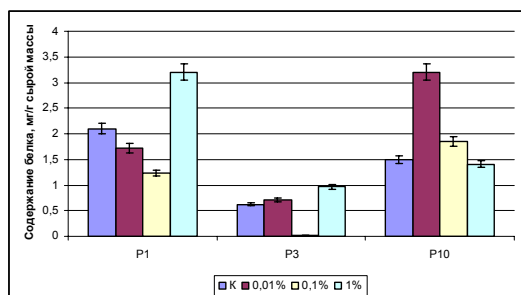


Рис. 4. Содержание мембраносвязанных белков в тканях водного растения *E. densa* в период реабилитации (5 суток после инкубации с добавлением анионных СПАВ): на оси X – периоды воздействия (сутки)

Анализируя полученные экспериментальные данные, следует отметить, что используемые в работе поллютанты различаются по своей химической природе и механизмам токсического действия на биологические мембраны водного растения *E. densa*. Однако реакция растительной клетки, выражающаяся в увеличении количества МСБ, была сходной: с увеличением продолжи-

тельности и степени воздействия поллютантов количество МСБ увеличивалось.

Таким образом, можно предположить, что реакции клеток растений на различные ксенобиотики однотипны. Причем степень выраженности воздействия факторов зависела от возможности выведения ксенобиотика из клеток (ионы кадмия) или отсутствия такой возможности (ПАВ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л.: Агропромиздат, 1987. 140 с.
2. Битюцкий Н.П. Необходимые микроэлементы растений. СПб.: Изд-во ДЕАН, 2005. 256 с.
3. Брагинский Л.П. Принципы классификации и некоторые механизмы структурно-функциональных перестроек пресноводных экосистем в условиях антропогенного пресса // Гидробиол. журн. 1998. Т. 34, № 6. С. 72-93.
4. Гринштейн С.В., Кост О.А. Структурно-функциональные особенности мембранных белков // Успехи биол. химии. 2001. Т. 41, № 1. С. 77-104.
5. Розенцвиг О.А., Мурзаева С.В., Гущина И.А. Роль мембранных липидов в устойчивости *Potamogeton perfoliatus* L. к избытку кадмия в воде // Изв. РАН. Сер. биол. 2004. № 6. С. 232-239.
6. Скугарева С.Г., Огородникова С.Ю., Головки Т.К., Ашихмина Т.Я. Фитотоксичность фосфорорганических соединений и ртути. Екатеринбург: УРО РАН, 2008. 153 с.
7. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2002. 240 с.
8. Цвелёв Н.Н. Семейство Водокрасовые (Hydrocharitaceae) / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. Жизнь растений. В 6 т. М.: Просвещение, 1982. Т. 6. 275 с.
9. Bredford M.M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein dye binding // Ann. Biochem. 1976. V. 72. P. 248-254.
10. http://dl.begellhouse.com/journals/38cb2223012b73f2_5ad897b82d0a1826,7a95a9b03945ec7a.html

XENOBIOTIC EFFECT ON CONTENT OF MEMBRANE PROTEINS IN TISSUE OF WATER SUBMERGED PLANT *EGERIA DENSA*

© 2011 I.R. Murzin¹, A.A. Kositsyna¹, O.A. Rozentsvet², O.N. Makurina³

¹ Samara state Oblastnoy Nayanova University, Samara

² Institutes of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Science, Togliatti

³ Samara State University, Samara

Effect of anionic superficially active substances and metal ions (Cd^{2+}) on the content of membrane proteins in water submerged plant *Egeria densa* was studied. Authentic differences in the protein content in control and experimental groups are revealed. Possible mechanisms of research object response on influences of pollutants of different chemical nature are proposed.

Keywords: *Hydrocharitaceae*, *water plants*, *heavy metals*, *membrane proteins*

Murzin Il'ya Radikovich, aspirant, dekanat.05.54@mail.ru; Kositsyna Arina Alekseevna, aspirant, dekanat.05.54@mail.ru; Rozentsvet Olga Anatol'evna, Doct. of Biol., e-mail: olgarozen@pochta.ru; Makurina Olga Nikolaevna, Doct. of Biol., dekanat.05.54@mail.ru