

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК *NITELLOPSIS OBTUSA* ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ КАДМИЯ

В. Киснерене, В. Сакалаускас, М. Куйсис, О. Севрюкова

Вильнюсский университет, г. Вильнюс, Литва

vilma.kisnieriene@gf.vu.lt

Несмотря на успехи в разработке новых технологий для быстрой детекции ксенобиотиков в окружающей среде, растительные индикаторы не теряют своей важности. По скорости роста, увеличению массы, разветвленности корней растений можно оценить содержание в почве тяжелых металлов. С помощью растений возможно значительно упростить анализ самых разных объектов окружающей среды, оценивая степень общего загрязнения и общей токсичности для живого организма, а также целесообразность дальнейшего детального анализа другими более сложными и дорогостоящими методами. Наиболее исследованными и используемыми в качестве индикаторных организмов являются харовые водоросли. Используя модельную систему клеток харовых водорослей можно установить влияние многих токсичных соединений на мембранные процессы растительных клеток. Как ответный сигнал на действие ксенобиотиков анализируются изменение мембранного потенциала. В настоящее время в связи с развитием информационно-измерительных систем, появилось больше возможностей наряду с мембранным потенциалом анализировать потенциалы действия растительных клеток. Установлено, что под влиянием ионов кадмия происходит деполяризация мембранного потенциала. Но анализ формы и динамики потенциала действия может дать более широкое представление о токсическом действии тяжелых металлов, в частности Cd. Ионы кадмия не входят в число необходимых для растений элементов, но тем не менее эффективно поглощаются клеткой. Широкое распространение кадмия в топливе, удобрениях, рудных отвалах наряду с использованием этого элемента в промышленном производстве и определяет постепенно увеличивающуюся концентрацию данного элемента в окружающей среде, а из-за высокой растворимости – в пресных водах. Поступая в водоемы, растворенный кадмий осаждается и накапливается в донных осадках. Явление биоаккумуляции Cd происходит как при наличии металла в естественных для окружающей среды количествах, так и при антропогенном загрязнении экосистемы. Высокая фитотоксичность кадмия объясняется его близостью по химическим свойствам к цинку. Cd может выступать в роли Zn во многих биохимических процессах, нарушая работу жизненноважных ферментов. Фитотоксичность кадмия проявляется и в тормозящем действии на фотосинтез, нарушении транспирации и фиксации углекислого газа, а также в изменении проницаемости клеточных мембран [1]. Исследование протопластов *Vicia faba* показали, что калиевые каналы не чувствительны к наружному применению Cd^{2+} . Но установлено, что Cd^{2+} , конкурируя с Ca^{2+} резко меняет внутриклеточную концентрацию кальция и влияет на внутриклеточную сигнализацию [2]. Ионы кадмия являются блокаторами кальциевых каналов возбудимых мембран в животных клетках. Для возникновения потенциала действия в растительных клетках важную роль играют именно кальциевые каналы. Cd также понижает концентрацию АТФ. В клетках *Nitellopsis obtusa* метаболическая компонента играет важную роль при формировании мембранного потенциала. Целью настоящей работы являлось установить как отражается влияние Cd^{2+} на динамике и форме потенциалов действия харовой водоросли *Nitellopsis obtusa* в зависимости от энергетического состояния клетки и наружной концентрации Cd^{2+} . Для регистрации электрических параметров клетки использовалась стандартная микроэлектродная техника и компьютеризированная информационно-измерительная система. Для исследования динамики потенциалов действия, клетка стимулировалась 6 раз с интервалом 5 минут.

Ответный сигнал биосенсора на одно и то же вещество зависит от концентрации последнего: малые концентрации обычно стимулируют процессы жизнедеятельности организ-

ма, высокие угнетают. Существенное повышение концентрации ксенобиотика приводит к летальному исходу. Таким образом, можно сделать вывод, что существует некоторая пороговая концентрация ионов кадмия, выше которой происходят необратимые изменения, ведущие к быстрой гибели растительной клетки. Процесс гибели начинается с резкой деполяризации мембранного потенциала и снижением амплитуды потенциала действия. Эта пороговая концентрация зависит от энергетического состояния клетки, которое отражается в значении потенциала покоя. Для клеток с ПП от -220 мВ и ниже предпороговая концентрация Cd^{2+} является 2×10^{-5} мол. При шестикратным возбуждении клетки наблюдается не деполяризация, а гиперполяризация мембранного потенциала. При этом следует отметить, что та же самая концентрация Cd^{2+} для клеток с более высоким потенциалом приводит к деполяризации мембранного потенциала.

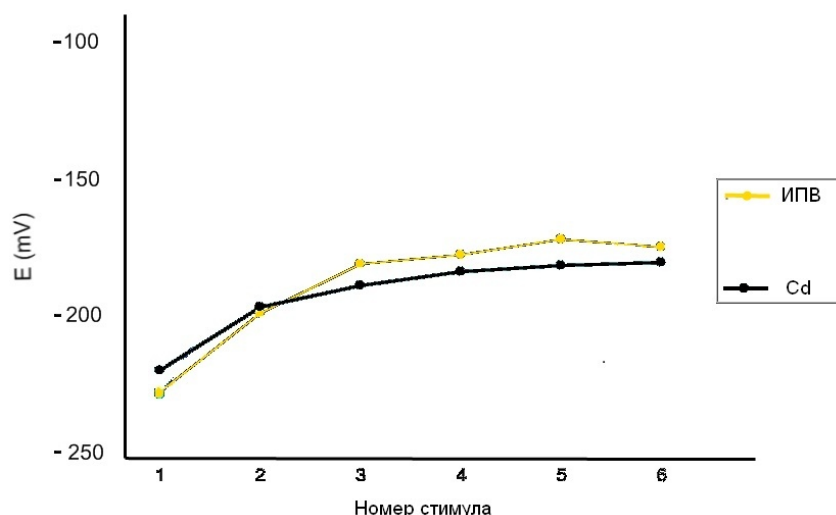


Рис. 1. Динамика мембранного потенциала при возбуждении клеток ($n=6$)

Исследуя динамику реполяризации потенциалов действия можем наблюдать смещение максимального изменения скорости потенциала в сторону более отрицательных значений, особенно при 3–6 стимулах.

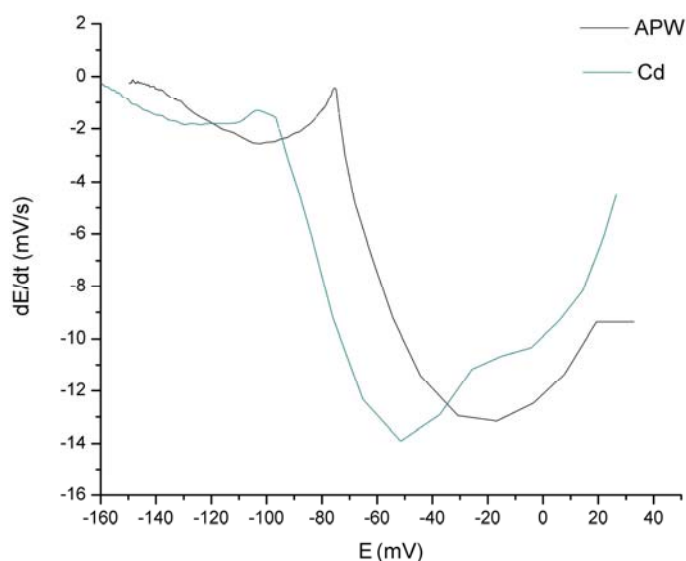


Рис. 2. Фазовый портрет реполяризации шестого потенциала действия ($n=6$)

Характеристики потенциала действия, наряду с другими электрофизиологическими параметрами, могут быть использованы как биомаркеры токсичности не только кадмия, но и других ксенобиотиков.

Литература

1. Laetitia S. Astolfi, S. Zuchi, C. Passera. Effect of cadmium on H⁺-ATPase activity of plasma membrane vesicles isolated from roots of different S-supplied maize (*Zeamays L.*) plants // Plant Science.– 2005.– V.169.– P.361–368.
2. Perfus-Barbeoch, Nathalie Leonhardt, Alain Vavasseur and Cyrille Forestier (2002). Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status // The Plant Journal.– 2002.– V.32.– P.539–548.

СОРТОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ РЕАКЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ, ВЫЗВАННЫЕ ГЕРБИЦИДОМ ТРЕФЛАНОМ

Ю.И. Кожуро, Е.А. Семенчик, Н.П. Максимова

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
kazhura@tut.by

В последние годы стремительно развиваются исследования сигнальных систем клеток растений, которые участвуют в формировании адаптационного синдрома (стресса), вызванного действием факторов различной природы [1]. Вместе с тем, с сигнальной сетью связаны компоненты цитоскелета, изменения в функционировании которого приводят к активации защитных механизмов клеток [2]. Несмотря на интерес к этой проблеме, практически не изучены ответные реакции растительных клеток на целый ряд веществ, воздействующих на такие специфические клеточные мишени как генетический аппарат и цитоскелет. Тем не менее, такого рода исследования имеют практическое значение, так как вещества, индуцирующие нарушения цитоскелета и процесса деления клеток, используются в сельском хозяйстве в качестве гербицидов.

При патологических состояниях растительных клеток часто происходит накопление тех или иных активных форм кислорода (АФК). Полученные данные показывают, что устойчивость растительных организмов к разнообразным воздействиям во многом определяется состоянием систем детоксикации АФК [3]. Выяснение этих особенностей для конкретных растительных организмов является основанием для проведения поиска и получения устойчивых к действию гербицидов сельскохозяйственных растений.

В связи с вышесказанным изучена зависимость между степенью функционирования микротрубочек цитоскелета и развитием реакции окислительного стресса у растений ячменя *Hordeum vulgare L.* сортов «Гонар», «Дзивосны», «Атаман» и «Сталы». Дестабилизацию микротрубочек цитоскелета индуцировали гербицидом *трефлан* (2,6-динитро-4-(трифторметил)-N,N-дипропиланилин). Степень дестабилизации цитоскелета оценивали с помощью цитогенетического анализа по количеству многоядерных интерфазных клеток и клеток с микроядрами, возникающих в зоне деления корня, а реакцию окислительного стресса – по изменению пероксидазной активности и концентрации восстановленной формы глутатиона в клетках растений.

Анализ динамики появления многоядерных клеток при обработке ячменя сорта «Гонар» трефланом в концентрации 0,1 мг/л показал, что у двухдневных проростков их количество не превышает контрольного значения (0,20±0,20 %), а у трех- и четырехдневных проростков возрастает до 3,00±0,76 % и 6,77±1,12 % соответственно. При обработке растений гербицидом в концентрации 1,0 мг/л более 1/3 всех клеток содержат нарушения. Аналогичные результаты получены при обработке трефланом растений сортов «Дзивосны» и «Атаман».