

ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА МЕТАБОЛИЗМ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Е.В. Спиридонова, И.С. Нестеркина, В.В. Гурина, Н.В. Озолина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, yatakol@mail.ru

Аннотация. Кадмий считается одним из важных поллютантов из-за его высокой токсичности для многих организмов. Проникая внутрь растительных клеток, он оказывает влияние на протекание метаболических процессов, в том числе и на транспортную систему биологических мембран. Было изучено действие кадмия (1, 10, 100 мкМ) на транспортную активность вакуолярных протонных помп (H^+ -АТФазу и H^+ -пирофосфатазу). Проводилась оценка стрессового воздействия ионов кадмия на вакуолярную мембрану (тонопласт) по количеству образовавшихся продуктов перекисного окисления липидов.

Ключевые слова. Кадмий, растительная клетка, вакуоль, транспорт

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1143-1145

В результате увеличения техногенной нагрузки на окружающую нас среду происходит накопление вредных токсических веществ в воздухе, воде и почве. Значительную часть из них составляют тяжелые металлы. В процессе роста и развития растений на загрязненных территориях происходит их проникновение внутрь растительных клеток, влияя тем самым на протекание метаболических реакций. За счет своей способности накапливаться в органах растений и животных тяжелые металлы по пищевой цепи попадают в организм человека, оказывая влияние на здоровье [Khan et al., 2015]. Кадмий считается одним из важных поллютантов из-за его высокой токсичности для многих организмов [Khoudi et al., 2012]. Известно, что растения способны либо ограничивать поступление кадмия и других токсичных веществ внутрь клетки, либо осуществлять их детоксикацию [Regvar, Vogel-Mikuš, 2008], благодаря чему изучение процессов поступления и характера поведения тяжелых металлов внутри клетки остается важной задачей для исследователей разных стран.

Один из важных механизмов сдерживания негативного действия кадмия на растения связан с изоляцией его ионов и комплексов в вакуоль. Перенос через вакуолярную мембрану (тонопласт) происходит благодаря белкам-переносчикам, осуществляющих свою работу за счет трансмембранного потенциала, генерируемого протонными помпами (H^+ -АТФазой и H^+ -пирофосфатазой) [Maeshima, 2001]. За счет работы этих ферментов поддерживается необходимый уровень pH в цитозоле, идет подкисление вакуолярного содержимого, что играет важную роль в разнообразных клеточных процессах, в частности, в мембранных транспортных системах и т.д. [Inoue, Forgas, 2005; Toeі et al., 2010]. Как показали результаты многих исследователей, поступление тяжелых металлов в клетку, в том числе и кадмия, вызывает окислительный стресс [Sandalio et al., 2009]. На сегодняшний день механизмы работы протонных помп в условиях стресса, вызванного действием тяжелых металлов, изучены не достаточно хорошо. Однако уже известно, что они принимают активное участие в адаптационных механизмах растительной клетки при осмотическом стрессе [Dietz et al., 2001; Wang et al., 2011; Liu et al., 2011.] и, вполне вероятно, что их роль при стрессе, вызванном присутствием кадмия, также будет достаточно значима. Кроме того, ранее нами было показано, что в условиях осмотического стресса активность H^+ -пирофосфатазы значительно преобладает, по сравнению с активностью H^+ -АТФазы [Озолина и др., 2010].

В проводимых исследованиях изучалось влияние различных концентраций кадмия (1, 10, 100 мкМ) на работу протонных помп тонопласта (H^+ -АТФазы и H^+ -пирофосфатазы). В качестве объекта исследования использовали корнеплоды столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). Фракцию вакуолярных мембран (тонопласт) получали макрообъемным методом с последующей очисткой при помощи дифференциального центрифугирования [Саляев и др., 1981]. Чистоту полученной фракции оценивали по белкам маркерам. Расчет полученных данных проводили на количество вносимого белка. Определение белка осуществляли по методу [Bradford, 1976]. Транспортную активность протонных помп тонопласта определяли методом флуоресцентных зондов. Для контроля специфичности реакций во всех экспериментах использовали общепринятые ингибиторы. Оценку стрессового влияния кадмия проводили по количеству образовавшихся продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов), а также по уровню проницаемости клеточных мембран. Изучение проницаемости клеточных мембран проводили кондуктометрическим методом.

В результате проведенных исследований было выяснено, что в присутствии ионов кадмия происходят изменения в проницаемости клеточных мембран. В ответ на добавление кадмия в инкубационный раствор наблюдалось увеличение выхода электролитов, однако значимые изменения отмечались только при использовании концентрации 100 мкМ. В условиях 1 и 10 мкМ кадмия достоверных отличий от контроля не наблюдалось. Для оценки влияния кадмия на биологические мембраны проводили определение продуктов перекисного окисления липидов. Было установлено, что используемые концентрации кадмия не достаточно влияли на количество образовавшихся диеновых конъюгатов, хотя в концентрации 100 мкМ и отмечалось небольшое увеличение их содержания. Можно сказать, что, несмотря на увеличение проницаемости клеточных мембран, в пределах используемых концентраций, кадмий не вызывает существенных изменений в липидной составляющей мембран. В дальнейшем проводилась работа по изучению влияния ионов кадмия на транспортные белки тонопласта (H^+ -АТФазу и H^+ -пирофосфатазу). Оценку активности этих ферментов проводили по результатам их протонтранслоцирующей активности. В ходе проведенных экспериментов было выявлено влияние ионов кадмия на транспорт обеих протонных помп. В присутствии 1, 10 и 100 мкМ ионов кадмия происходило частичное ингибирование их активности. Наблюдаемые изменения частично соотносимы и с результатами других исследователей [Kabała et al., 2010]. По-видимому, в данном случае снижение активности может быть связано с конформационными изменениями в структуре изучаемых протонных помп. В результате проводимых экспериментов было выявлено различное влияние кадмия на протекание метаболических реакций в растительном организме, что дает нам возможность для дальнейшего изучения механизмов его влияния на внутриклеточные процессы.

Литература

Озолина Н.В., Колесникова Е.В., Нурминский В.Н., Нестеркина И.С., Дударева Л.В., Донская Л.И., Саляев Р.К. Влияние экзогенного донора Ca^{2+} и изменения содержания ионов кальция на транспортную активность протонных насосов тонопласта в онтогенезе и при гиперосмотическом стрессе // Биологические мембраны. – 2010. – Т. 27, № 4. – С. 354–358.

Саляев Р.К., Кузеванов В.Я., Хаптагаев С.Б., Копытчук В.Н. Выделение и очистка вакуолей и вакуолярных мембран из клеток растений // Физиология растений. – 1981. – № 28. – С. 1295–1305.

Bradford D.P. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilising the principal of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – No. 72. – P. 248–254.

Dietz K.J., Tavakoli N., Kluge C., Mimura T., Sharma S.S., Harris G.C., Chardonnens A.N., Golldack D. Significance of the V-type ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level // *Experimental Botany*. – 2001. – V. 52 (363). – P. 1969–1980.

Inoue T., Forgac M. Cysteine-mediated cross-linking indicates that subunit C of the V-ATPase is in close proximity to subunits E and G of the V1 domain and subunit a of the V0 domain // *J. of Biol. Chemistry*. – 2005. – V. 280 (30). – P. 27896–27903.

Kabała K., Janicka-Russak M., Kłobus G. Different responses of tonoplast proton pumps in cucumber roots to cadmium and copper // *J. Plant Physiol.* – 2010. – V. 167 (16). – P. 1328–35.

Khan A., Khan S., Khan M.A. Qamar Z., Waqas M. The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrient, and associated health risk: a review // *Environ. Sci. Pollut. Pes.* – 2015. – V. 22. – P. 13772–13799.

Khoudi H., Maatar Y., Gouiaa S., Masmoudi K. Transgenic tobacco plants expressing ectopically wheat H⁺-pyrophosphatase gene TaVP1 show enhanced accumulation and tolerance to cadmium // *J. Plant Physiol.* – 2012. – V. 169 (1). – P. 98–103.

Maeshima M. Tonoplast transporters: organization and function // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2001. – V. 52. – P. – 469–497.

Regvar M., Vogel-Mikuš K. Recent advances in understanding of plant responses to excess metals: exposure, accumulation and tolerance // *Sulfur assimilation and abiotic stress in plants* / Ed. N. A. Khan. – Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. – P. 227–251.

Sandalio L. M., Rodríguez-Serrano M., del Rio L. A., Romero-Puertas M. C. Reactive oxygen species and signaling in cadmium toxicity // *Signaling and communication in plants* / Eds. L. A. del Rio, A. Puppo. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. – P. 175–189

Toei M., Saum R., Forgac M. Regulation and isoform function of the V-ATPases // *Biochemistry*. – 2010. – V. 49. – P. 4715–4723.

INFLUENCE OF CADMIUM ON PLANT CELL METABOLISM

E.V. Spiridonova, I.S. Nesterkina, V.V. Gurina, N.V. Ozolina

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, yatakol@mail.ru

Abstract. Cadmium is considered one of the important pollutants because of its high toxicity for many organisms. Penetrating the plant cells, it affects the course of metabolic processes, including the transport system of biological membranes. The effect of cadmium (1, 10, 100 μM) on the transport activity of vacuolar proton pumps (H⁺-ATPase and H⁺-PPase) was investigated. The stress effect of cadmium ions on the vacuolar membrane (tonoplast) was estimated by the amount of lipid peroxidation products.

Keyword: cadmium, plant cell, vacuole, transport