

УДК 576.314:576.344 + 581.522.5:582.263

*В. В. Грубинко, К. В. Костюк***СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТОЧНЫХ
МЕМБРАНАХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ ПРИ
ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ**

Рассматриваются изменения в мембранах клеток пресноводных растений при влиянии ионов цинка, свинца и дизельного топлива. Впервые описан механизм адаптации водных растений к токсическим веществам за счет образования в их клетках вторичных концентрических мембран.

Ключевые слова: водные растения, тяжелые металлы, дизельное топливо, вторичные концентрические мембраны.

Жизнедеятельность клеток, особенно у водных организмов, контактирующих со средой существования постоянно, во многом определяется составом, структурой и функциональным состоянием их мембран. В устойчивости растений к действию факторов внешней среды помимо специфических реакций клеточных мембран (изменение плотности, вязкости, проницаемости и др.), важную роль играют и неспецифические, часто сопряженные с изменением их состава и структуры [12, 13]. Большую устойчивость мембран адаптированных растений связывают, в частности, с качественными и количественными изменениями их липидов [7, 19]. Кроме того, благодаря барьерной функции мембран, окружающих клетку или ее отдельные компартменты снаружи, в клетке и ее органоидах создается гетерогенная физико-химическая среда и по разные стороны мембраны происходят различные биохимические реакции [1]. Так, при воздействии Zn^{2+} и Pb^{2+} на микроводоросли образуются прочные связи этих металлов с компонентами мембран, ингибируются постоянно функционирующие мембранные ферменты, ионный транспорт, энергетические процессы на мембране, а также изменяется ионный и энергетический гомеостаз в клетках [2, 6]. Однако до сих пор тонкие механизмы мембранных перестроек у водных растений при изменении химического состава среды их обитания детально не изучены.

Целью работы было исследование процесса индуцируемой токсикантами (тяжелыми металлами и нефтепродуктами) структурной перестройки мембран у различных водных растений, различающихся таксономически и по устойчивости к стресс-факторам.

© Грубинко В. В., Костюк К. В., 2011

Материал и методика исследований. Исследования проводили на хлорелле (*Chlorella vulgaris* Beijer.), элодее (*Elodea canadensis*) и ряске (*Lemna minor* L.). Хлореллу выращивали в условиях накопительной культуры в люменостате при освещении лампами дневного света (2500 лк) и температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$ на питательной среде Фитцджеральда в модификации Цендера и Горема (№ 11) [8]. Элодею и ряску выращивали в аквариумах с отстоянной водопроводной водой при тех же условиях. В экспериментах к культурам растений добавляли водные растворы солей тяжелых металлов: $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ из расчета: Zn^{2+} — 1,0, 2,0 и 5,0 мг/дм³; Pb^{2+} — 0,1, 0,2 и 0,5 мг/дм³, что соответствует 1, 2 и 5 ПДК, а также дизельное топливо (ДТ) в количестве 0,01, 0,05, 0,1, 0,2 и 0,3 мг/дм³, что составляет 1, 5, 10, 20 и 30 ПДК для водоемов рыбохозяйственного значения [5, 10]. Период выдерживания водных растений в токсической среде был равен 14 суткам. Контролем служили растения, содержащиеся в среде без токсикантов.

Клеточные мембраны выделяли по методике Финдлея и Эванза [11] из гомогенатов биомассы растений, полученных в механическом гомогенизаторе при 7000 об/мин в 5 мМ трис-НСI буфере (рН 7,6), содержащем 0,5 М сахарозы, 0,005 М ЭДТА, 0,01 М КСI и 0,001 М MgCl_2 (сырая масса : объем буфера — 1 : 5), центрифугированием при 5000 об/мин на протяжении 15 мин. Мембранный материал собирали в пространстве разделения фаз с помощью шприца. Все процедуры проводили при 4°C .

Микроскопическое исследование мембран осуществляли после их окрашивания красителем «хлор — цинк — йод» (водный раствор ZnCl_2 и КJ) [15]. При этом к капле раствора выделенных мембран на предметном стекле добавляли краситель, затем в избытке кристаллический J_2 , накрывали покровным стеклом. Препарат просматривали под микроскопом МБИ-15 с последующим интегрирующим цифровым анализом на комплексе «SSTU-camera Manual Vision SSD-color-WOYV00020» (Южная Корея). Общее увеличение — $\times 9000$.

Результаты исследований и их обсуждение

Одним из интереснейших феноменов, наблюдавшихся ранее в клеточных мембранах водорослей [2, 6], является их способность после первичного повреждения токсикантами и значительной потери возможности адаптироваться к токсическим факторам со временем восстанавливать функциональную активность, включая и функционирование мембранных ферментов, прежде всего АТФ-аз. Показано, что при попадании клеток в измененную среду поврежденная мембрана не только восстанавливает свои функции после снятия действия ксенобиотиков, но и наблюдается уникальное явление, скорее всего возникающее как результат защитно-компенсаторной реакции клеток на неблагоприятные факторы и не имеющее пока общепринятого названия — «индуцированное образование вторичных концентрических мембран». Это явление было обнаружено на ранней стадии аскоспорогенеза у *Arthroderma vanbreuseghemii* [20] и позже у *A. simii* [17], у которых аски содержали перепончатые структуры, составляющие мембранную систему из двух вставленных мембранных единиц аморфного характера подобно концентрическим мембранным кругам. Позже дифференцирование гомо-

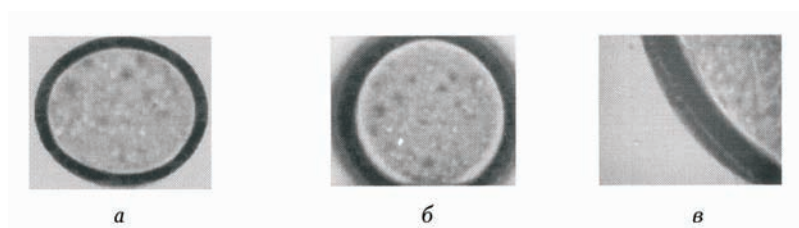
генной двойной мембранной системы было обнаружено при созревании аск [21]. Электронно-микроскопически выявлен кольцевой мембранный комплекс и в процессе сперматогенеза *Fenneropenaeus chinensis* [23].

У высших растений мультиламеллярные перепончатые профили, ассоциированные с плазменной мембраной, пузырьками, эндоплазматической сетью и десмосомами, найдены в сухой пыльце груши *Pyrus communis* [22].

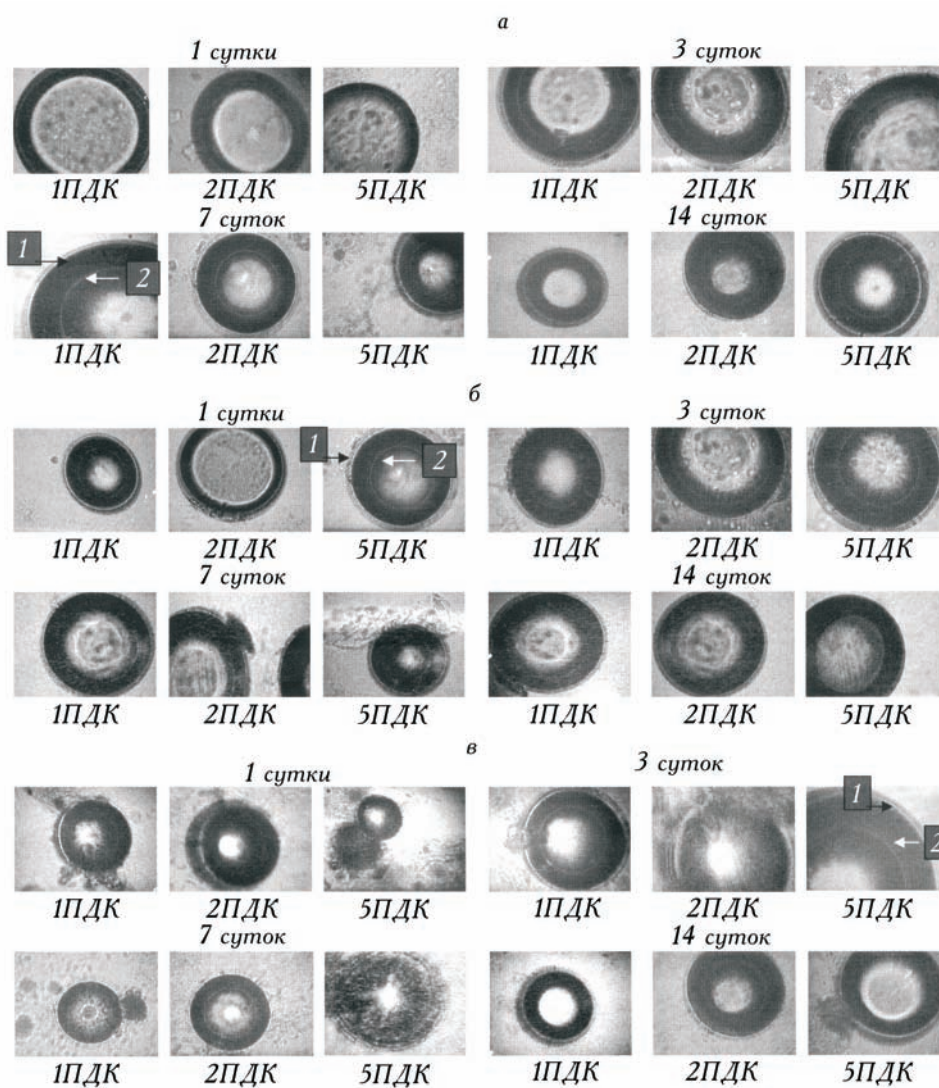
Концентрическая система мембран обнаружена и в изолированных нервных клетках гвинейской свиньи [16]. Позже теми же авторами [18] при моделировании внутриклеточных мембран *in vitro* под воздействием перманганата калия получены электронные микрофотографии миелиновых фосфолипидов двух индивидуальных мембран разной плотности, составляющих концентрический массив, в котором попарно связывались от 200 до 1000 мембран. Сделан вывод о возможности регуляции формирования концентрической системы искусственных фосфолипидных мембран в аралдите под влиянием перманганата, что подтвердило модулирующую способность к образованию концентрических мембран не только биологических стрессоров, но и химических веществ.

При выращивании хлореллы и микрококка в среде, содержащей от 6 до 9% тяжёлой воды (Н- и D-среды), экспериментальные клетки имели более толстую клеточную стенку, чем контрольные, а на микрофотографии дейтерированных клеток обнаружены уплотненные и электронно-прозрачные участки плотно упакованных мембран, наподобие мезосом [9]. Эти участки отличались от контрольных по показателям содержания жирных кислот из D-липидов. Сделан вывод о том, что клеточная мембрана является одной из первых органелл клетки, которая испытывает воздействие тяжёлой воды и компенсирует реологические параметры (вязкость, текучесть, структурированность) за счет изменения количественного состава липидов.

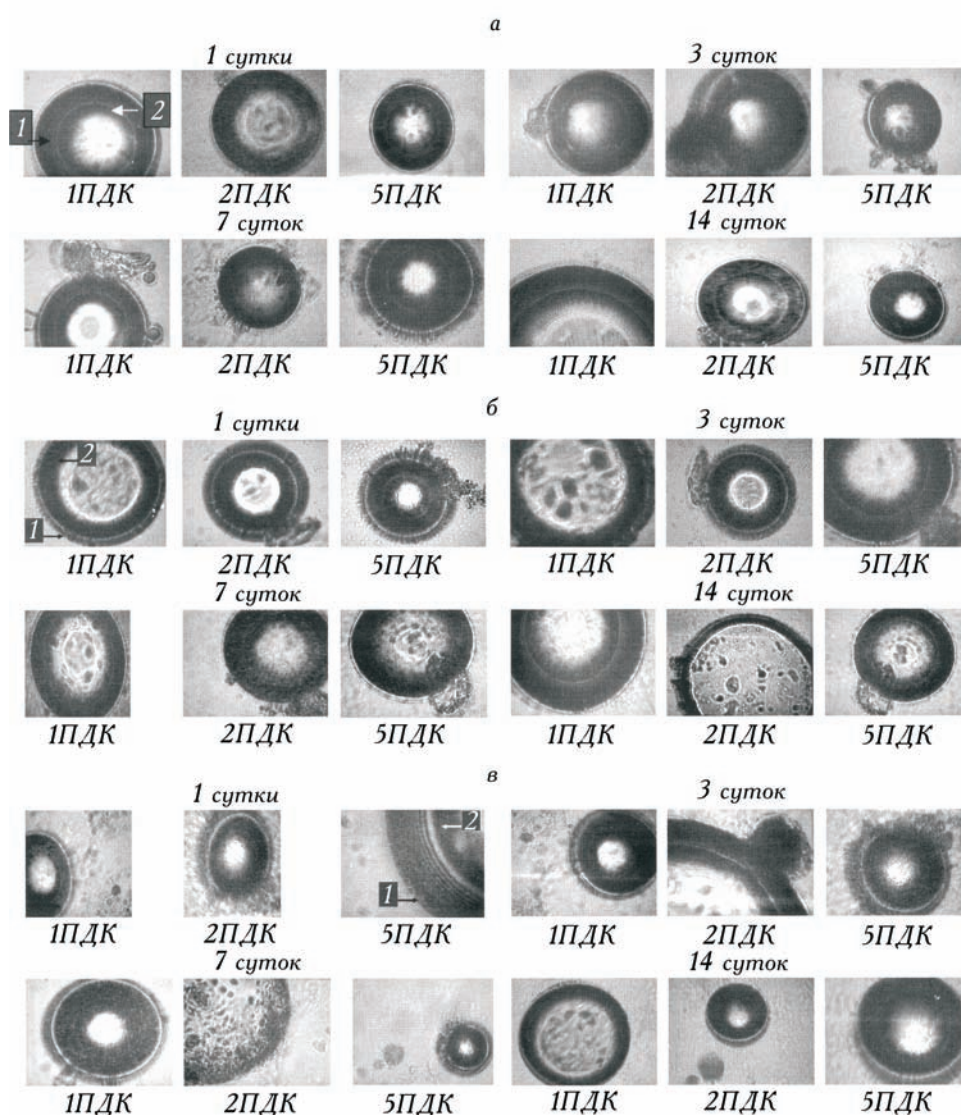
Таким образом, формирование вторичной мембраны в клетках сопряжено либо со структурно-функциональными перестройками при активной дифференциации клеток, либо с химическим воздействием. Вместе с тем точная причина и механизм развития этого процесса не установлены. В большинстве случаев предполагается, что при образовании вторичной мембраны происходит молекулярная перестройка, которая приводит к количественному и качественному изменению ее состава, сопровождается изменениями активности ферментов, проницаемости и ионных потоков, в результате чего происходят существенные сдвиги в метаболизме клетки. Следует заметить, что эту реакцию мембран наблюдали только в экстремальных состояниях клеток и проявлялась она фенотипически в различных модификациях. В связи с последним обнаруженное явление в каждом случае авторами было названо по-разному: «гомогенные внутренние и внешние треки двойной мембранной системы» [14], «многократные мембраны концентрической мембранной системы» [17, 20], «система двойной мембраны» [21], «закутывание мембранной системы» [23]. Поскольку все названия отображают явление с аналогичными изменениями, придерживаемся определения «двойная концентрическая мембрана».



1. Микрофотографии клеток хлореллы (а), элодеи (б) и ряски (в) в контроле. Здесь и на рис. 2—4 увеличение $\times 9000$.



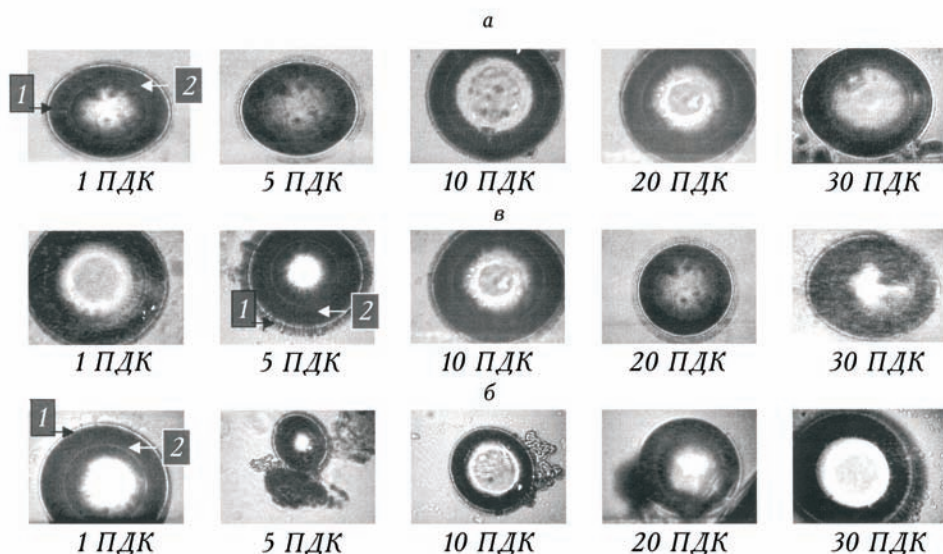
2. Микрофотографии клеток хлореллы (а), элодеи (б) и ряски (в), выращенных при воздействии ионов цинка. Здесь и на рис. 3 и 4: 1 — внешняя мембрана; 2 — внутренняя мембрана.



3. Микрофотографии клеток хлореллы (а), элодеи (б) и ряски (в), выращенных при воздействии ионов свинца.

В нашем исследовании в клетках, выращенных в среде с тяжелыми металлами и дизельным топливом, с помощью световой микроскопии выявлены существенные морфологические отличия по сравнению с клетками контрольных растений (рис. 1—4), в основном касающиеся изменения толщины мембран и размера клеток (табл. 1—3).

При повышенной концентрации ионов цинка в среде уже в течение первых суток в клетках хлореллы увеличивалась зернистость цитоплазмы (см. рис. 2, а). По истечении 3 сут в клетках появлялся второй концентрический



4. Микрофотографии клеток хлореллы (а), элодеи (б) и ряски (в), выращенных при воздействии дизельного топлива.

круг мембран, зернистость цитоплазмы возрастала, наблюдалось усиление вакуолизации и конденсации вещества белого цвета. На протяжении 7—14 сут воздействия Zn^{2+} концентрическая мембрана утолщалась, а ядерно-цитоплазматическое пространство сокращалось.

В клетках элодеи аналогичные изменения наиболее ярко проявлялись на протяжении 1—3 сут воздействия цинка, после чего отчетливо была видна деградация клеток, разрывы мембран и потеря ядерно-цитоплазматического пространства (см. рис. 2, б). Аналогичные изменения отмечены и у ряски (см. рис. 2, в). Наиболее заметный эффект мембранообразования выявлен по истечении 3 сут воздействия цинка в концентрации 5 ПДК.

Ионы свинца индуцировали образование концентрических мембран у хлореллы уже на первые сутки воздействия, а начиная с 3-х и далее происходило разрушение мембран, выход содержимого цитоплазмы из клеток (см. рис. 3, а) и максимальное сокращение ядерно-цитоплазматического пространства. Последние эффекты в клетках элодеи и ряски (см. рис. 3, б, в) наблюдались уже на первые сутки воздействия токсиканта, они усиливались как по мере возрастания его концентрации, так и при увеличении продолжительности воздействия до 14 суток. Таким образом, свинец вызывал более значительные клеточные патологии раньше и в меньшей концентрации, чем цинк.

Действие дизельного топлива вызывало у хлореллы образование вторичной концентрической мембраны при 1 ПДК, при 5 ПДК в клетках были видны уплотнения, формирующие отчетливую мембрану при 10 ПДК (рис. 4, а). У элодеи этот процесс также развивался при 1 ПДК ДТ, а по мере возраста-

1. Основные морфометрические параметры клеток исследуемых водных растений при воздействии ионов цинка

Экспозиция, сутки	Варианты эксперимента	1 ПАК			2 ПАК			5 ПАК		
		R	M ₁	M ₂	R	M ₁	M ₂	R	M ₁	M ₂
1	Контроль	4,10 ± 0,025	1,19 ± 0,03	0	4,10 ± 0,025	1,19 ± 0,03	0	4,10 ± 0,025	1,19 ± 0,03	0
		3,99 ± 0,06	1,21 ± 0,03	0,20 ± 0,03	3,16 ± 0,08	0,94 ± 0,07	0,40 ± 0,019	2,57 ± 0,012	1,17 ± 0,06	0,59 ± 0,02
3	Контроль	4,50 ± 0,07	1,04 ± 0,06	0	4,50 ± 0,07	1,04 ± 0,06	0	4,50 ± 0,07	1,04 ± 0,06	0
		3,61 ± 0,01	0,97 ± 0,03	0,51 ± 0,03	1,67 ± 0,03	0,90 ± 0,04	0,49 ± 0,025	2,17 ± 0,015	0,89 ± 0,03	0,90 ± 0,015
7	Контроль	4,30 ± 0,02	0,96 ± 0,04	0	4,30 ± 0,02	0,96 ± 0,04	0	4,30 ± 0,02	0,96 ± 0,04	0
		1,97 ± 0,08	0,48 ± 0,03	0,79 ± 0,02	1,47 ± 0,04	0,47 ± 0,04	1,15 ± 0,014	1,28 ± 0,01	0,50 ± 0,02	1,08 ± 0,07
14	Контроль	4,20 ± 0,025	1,05 ± 0,01	0	4,20 ± 0,025	1,05 ± 0,01	0	4,20 ± 0,025	1,05 ± 0,01	0
		2,09 ± 0,09	0,49 ± 0,02	1,14 ± 0,012	0,94 ± 0,06	0,46 ± 0,04	1,12 ± 0,05	0,97 ± 0,04	0,50 ± 0,01	1,29 ± 0,04
1	Контроль	4,20 ± 0,19	1,00 ± 0,02	0	4,20 ± 0,19	1,00 ± 0,02	0	4,20 ± 0,19	1,00 ± 0,02	0
		4,00 ± 0,1	0,98 ± 0,03	0,30 ± 0,09	2,60 ± 0,08	0,96 ± 0,04	0,28 ± 0,05	1,30 ± 0,03	0,95 ± 0,04	0,48 ± 0,02

Хлорелла

Элодея

Продолжение табл. 1

Экспозиция, сутки	Варианты эксперимента	1 ПДК		2 ПДК		5 ПДК				
		R	M ₁	M ₂	R	M ₁	M ₂	R	M ₁	M ₂
3	Контроль	4,00 ± 0,09	1,04 ± 0,04	0	4,00 ± 0,09	1,04 ± 0,04	0	4,00 ± 0,09	1,04 ± 0,04	0
	Опыт	1,00 ± 0,09	0,94 ± 0,04	0,48 ± 0,02	0,95 ± 0,04	0,94 ± 0,03	0,47 ± 0,04	1,02 ± 0,06	0,87 ± 0,02	0,60 ± 0,02
7	Контроль	3,96 ± 0,05	1,18 ± 0,07	0	3,96 ± 0,05	1,18 ± 0,07	0	3,96 ± 0,05	1,18 ± 0,07	0
	Опыт	0,94 ± 0,03	1,08 ± 0,04	0,50 ± 0,01	1,04 ± 0,06	0,69 ± 0,02	0,61 ± 0,01	1,05 ± 0,08	0,66 ± 0,03	0,72 ± 0,03
14	Контроль	4,22 ± 0,1	0,97 ± 0,03	0	4,22 ± 0,1	0,97 ± 0,03	0	4,22 ± 0,1	0,97 ± 0,03	0
	Опыт	2,58 ± 0,08	1,08 ± 0,07	0,69 ± 0,01	1,40 ± 0,03	0,71 ± 0,02	1,06 ± 0,09	1,47 ± 0,06	0,59 ± 0,01	1,20 ± 0,05
1	Контроль	4,30 ± 0,4	1,10 ± 0,09	0,00	4,30 ± 0,4	1,10 ± 0,09	0	4,30 ± 0,4	1,10 ± 0,09	0
	Опыт	3,10 ± 0,1	0,94 ± 0,05	0,22 ± 0,01	1,65 ± 0,04	0,91 ± 0,03	0,30 ± 0,02	1,50 ± 0,02	0,72 ± 0,01	0,52 ± 0,05
3	Контроль	3,80 ± 0,09	1,00 ± 0,09	0,00	3,80 ± 0,09	1,00 ± 0,09	0	3,80 ± 0,09	1,00 ± 0,09	0,00
	Опыт	2,50 ± 0,01	0,93 ± 0,1	0,50 ± 0,02	1,60 ± 0,03	0,89 ± 0,02	0,51 ± 0,01	1,03 ± 0,02	0,69 ± 0,02	0,49 ± 0,02

Ряска

Продолжение табл. 1

Экспозиция, сутки	Варианты эксперимента	1 ПАК		2 ПАК		5 ПАК	
		R	M ₁	R	M ₁	R	M ₁
7	Контроль	3,50 ± 0,07	1,20 ± 0,02	3,50 ± 0,07	1,20 ± 0,02	3,50 ± 0,07	1,20 ± 0,02
	Опыт	1,10 ± 0,04	0,71 ± 0,02	0,94 ± 0,03	0,70 ± 0,03	0,91 ± 0,02	0,30 ± 0,01
14	Контроль	3,40 ± 0,09	0,89 ± 0,08	3,40 ± 0,09	0,89 ± 0,08	3,40 ± 0,09	0,89 ± 0,08
	Опыт	0,98 ± 0,08	0,71 ± 0,03	0,98 ± 0,06	0,67 ± 0,02	0,94 ± 0,03	0,49 ± 0,01

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: R — радиус клетки, мкм; M₁ и M₂ — толщина соответственно внешней (первичной) и внутренней (вторичной) мембран, 10⁻² мкм.

2. Основные морфометрические параметры клеток исследуемых водных растений при воздействии ионов свинца

Экспозиция, сутки	Варианты эксперимента	1 ПАК		2 ПАК		5 ПАК	
		R	M ₁	R	M ₁	R	M ₁
1	Контроль	4,27 ± 0,03	1,18 ± 0,01	4,27 ± 0,03	1,18 ± 0,01	4,27 ± 0,03	1,18 ± 0,01
	Опыт	2,91 ± 0,01	1,09 ± 0,01	2,90 ± 0,02	0,96 ± 0,03	2,50 ± 0,01	1,00 ± 0,04
3	Контроль	4,50 ± 0,02	1,03 ± 0,06	4,50 ± 0,02	1,03 ± 0,06	4,50 ± 0,02	1,03 ± 0,06

Хлорелла

Продолжение табл. 2

Экспозиция, сутки	Варианты эксперимента	1 ПДК		2 ПДК		5 ПДК	
		R	M ₁	R	M ₁	R	M ₁
7	Опыт	2,14 ± 0,01	0,79 ± 0,02	1,71 ± 0,03	0,61 ± 0,02	1,54 ± 0,03	0,51 ± 0,03
	Контроль	4,40 ± 0,02	0,97 ± 0,03	4,40 ± 0,02	0,97 ± 0,03	4,40 ± 0,02	0,97 ± 0,03
14	Опыт	2,15 ± 0,01	0,52 ± 0,03	2,50 ± 0,017	0,53 ± 0,02	1,70 ± 0,02	0,43 ± 0,04
	Контроль	4,30 ± 0,01	1,06 ± 0,05	4,30 ± 0,01	1,06 ± 0,05	4,30 ± 0,01	1,06 ± 0,05
1	Опыт	2,05 ± 0,04	0,50 ± 0,03	1,01 ± 0,03	0,50 ± 0,04	1,00 ± 0,01	0,40 ± 0,02
	Контроль	4,06 ± 0,05	1,06 ± 0,05	4,06 ± 0,05	1,06 ± 0,05	4,06 ± 0,05	1,06 ± 0,05
3	Опыт	3,80 ± 0,05	0,92 ± 0,04	2,06 ± 0,01	0,98 ± 0,01	0,90 ± 0,07	0,99 ± 0,06
	Контроль	4,03 ± 0,05	1,13 ± 0,04	4,03 ± 0,05	1,13 ± 0,04	4,03 ± 0,05	1,13 ± 0,04
7	Опыт	0,96 ± 0,05	0,69 ± 0,04	0,78 ± 0,03	0,50 ± 0,02	0,47 ± 0,03	0,59 ± 0,02
	Контроль	4,10 ± 0,09	1,20 ± 0,04	4,10 ± 0,09	1,20 ± 0,04	4,10 ± 0,09	1,20 ± 0,04

Элодея

Продолжение табл. 2

Экспозиция, сутки	Варианты эксперимента	1 ПАК		2 ПАК		5 ПАК				
		R	M ₁	M ₂	R	M ₁	M ₂	R	M ₁	M ₂
14	Опыт	1,13 ± 0,01	0,69 ± 0,01	0,96 ± 0,01	0,76 ± 0,05	0,53 ± 0,02	1,29 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,41 ± 0,01	1,50 ± 0,04
	Контроль	4,20 ± 0,01	0,90 ± 0,02	0,00	4,20 ± 0,01	0,90 ± 0,02	0,00	4,20 ± 0,01	0,90 ± 0,02	0,00
14	Опыт	1,45 ± 0,04	0,70 ± 0,03	1,15 ± 0,04	1,20 ± 0,01	0,49 ± 0,01	1,51 ± 0,01	0,95 ± 0,05	0,38 ± 0,02	1,96 ± 0,02
	Контроль									
1	Контроль	4,00 ± 0,1	1,03 ± 0,05	0,00	4,00 ± 0,1	1,03 ± 0,05	0,00	4,00 ± 0,1	1,03 ± 0,05	0
	Опыт	3,70 ± 0,02	0,90 ± 0,02	0,45 ± 0,04	1,90 ± 0,02	0,59 ± 0,02	0,54 ± 0,03	1,40 ± 0,02	0,49 ± 0,02	0,55 ± 0,02
3	Контроль	3,86 ± 0,06	0,90 ± 0,09	0,00	3,86 ± 0,06	0,90 ± 0,09	0	3,86 ± 0,06	0,90 ± 0,09	0
	Опыт	1,40 ± 0,01	0,60 ± 0,03	0,94 ± 0,05	1,41 ± 0,03	0,48 ± 0,03	0,94 ± 0,05	0,93 ± 0,06	0,29 ± 0,01	0,920,04
7	Контроль	3,60 ± 0,09	1,03 ± 0,05	0,00	3,60 ± 0,09	1,03 ± 0,05	0,00	3,60 ± 0,09	1,03 ± 0,05	0
	Опыт	1,20 ± 0,02	0,48 ± 0,01	0,94 ± 0,05	1,22 ± 0,01	0,47 ± 0,03	1,30 ± 0,09	1,25 ± 0,04	0,29 ± 0,01	1,50 ± 0,02
14	Контроль	3,80 ± 0,1	0,83 ± 0,1	0	3,80 ± 0,1	0,83 ± 0,1	0	3,80 ± 0,1	0,83 ± 0,1	0,00
	Опыт	0,90 ± 0,09	0,49 ± 0,01	1,20 ± 0,02	0,84 ± 0,03	0,47 ± 0,01	1,60 ± 0,01	0,45 ± 0,04	0,26 ± 0,02	1,80 ± 0,04

Ряска

3. Основные морфометрические параметры клеток исследуемых водных растений при воздействии дизтоплива (на 14-е сутки)

Концентрация	Хлорелла			Элодея			Ряска		
	R	M ₁	M ₂	R	M ₁	M ₂	R	M ₁	M ₂
Контроль	4,50 ± 0,02	1,12 ± 0,05	0,00	4,00 ± 0,03	1,00 ± 0,09	0,00	4,10 ± 0,09	1,06 ± 0,05	0,00
1 ПДК	3,62 ± 0,05	0,98 ± 0,02	0,22 ± 0,01	3,06 ± 0,05	0,90 ± 0,09	0,30 ± 0,01	2,40 ± 0,01	0,94 ± 0,04	0,19 ± 0,001
5 ПДК	2,51 ± 0,03	0,97 ± 0,02	0,20 ± 0,02	3,20 ± 0,04	0,85 ± 0,05	0,60 ± 0,01	2,50 ± 0,01	0,93 ± 0,02	0,59 ± 0,02
10 ПДК	1,09 ± 0,09	0,82 ± 0,02	0,52 ± 0,03	2,40 ± 0,03	0,54 ± 0,04	1,70 ± 0,01	1,20 ± 0,03	0,60 ± 0,01	1,03 ± 0,06
20 ПДК	0,97 ± 0,03	0,61 ± 0,02	1,57 ± 0,02	2,06 ± 0,02	0,43 ± 0,04	2,06 ± 0,05	1,13 ± 0,02	0,52 ± 0,01	1,49 ± 0,04
30 ПДК	1,07 ± 0,06	0,59 ± 0,0	1,49 ± 0,02	1,40 ± 0,02	0,40 ± 0,01	0,90 ± 0,05	0,90 ± 0,04	0,49 ± 0,01	1,46 ± 0,07

ния его концентрации клетки погибали (см. рис. 4, б). У ряски при 10 ПДК ДТ происходили разрывы мембран, а концентрическая мембрана образовывалась уже при 1 ПДК (см. рис. 4, в). Линейные размеры клеток и толщина мембран соответствовали выявленным микроскопически изменениям.

В целом при воздействии цинка радиус клеток хлореллы уменьшался в 2—4 раза при всех исследованных концентрациях металла. При этом толщина внешней мембраны практически не изменялась, но почти в 5 раз увеличивалась толщина внутренней концентрической, которая становилась такой же, как и внешняя. Таким образом, толщина клеточной мембраны при возрастании концентрации токсиканта и продолжительности его воздействия увеличивалась практически в 2 раза. Свинец также уменьшал линейные размеры клеток в 1,5 раза.

У ряски радиус клеток возрастал в 1,5—3,0 раза при воздействии ионов цинка и свинца. Толщина внешней мембраны изменялась в пределах статистических отклонений от среднего значения, а внутренней — больше в случае ярко выраженного ее формирования, и менее заметно — у гибнущих клеток.

У элодеи наблюдались те же эффекты как по градиенту концентрации, так и по продолжительности воздействия токсиканта. Средние размеры клеток были больше у хлореллы, но в дальнейшем они уменьшались в отличие от клеток ряски и элодеи. Средняя толщина концентрической мембраны у всех исследованных организмов была близка при всех значениях концентрации токсикантов, хотя при 5 ПДК металлов она была несколько больше.

Воздействие дизельного топлива уменьшало размер клеток у хлореллы и ряски в 1,5 раза, а у элодеи — настолько же увеличивало. Толщина внешней мембраны по мере возрастания концентрации ДТ практически не изменялась, внутренней — была максимальной у хлореллы при 5 ПДК, у ря-

ски — 1 ПДК, у элодеи — при 10 ПДК. При воздействии ДТ образование концентрических мембран происходило, как и при действии металлов, при 5 ПДК.

Процесс образования двойной концентрической мембраны у всех исследованных организмов имел сходные черты и происходил уже на первые сутки воздействия стрессоров независимо от их природы (биогенный цинк, токсичный свинец или неспецифический токсикант дизельное топливо). Вместе с тем отмечена видоспецифичная реакция на токсикант по скорости образования, толщины и времени дезадаптивного разрушения внутренней концентрической мембраны. Внешняя (первичная) мембрана при этом консервативна по толщине, за исключением разрывов и выхода цитоплазмы из клеток.

Заключение

Реакции клеток в ответ на воздействие токсикантов в значительной мере сводятся к изменениям в их мембранных образованиях, прежде всего к образованию «двойной концентрической мембранной системы», являющейся адаптивным компенсаторно-защитным механизмом. В основе первичной мембранной реакции растений к неблагоприятным факторам лежит гиперплазия эндоплазматического ретикулума; увеличение его количества может сопровождаться образованием структур, которые в микроскопе часто видны как участки эозинофильной цитоплазмы [3, 4, 12]. Биохимически доказано, что в структурах, сформированных гладким эндоплазматическим ретикуломом, увеличивается содержание ферментов, ответственных за детоксикацию. Это свидетельствует об участии мембран в процессах детоксикации, что соотносится с моделью нашего исследования, однако необходимы более детальные исследования.

Для более глубоких выводов о природе и механизмах образования двойных концентрических мембран необходимы экспериментальные исследования физиологических и биохимических свойств адаптированных клеток в момент изменения мембранных структур.

**

Наведено дані про вплив металів і нафтопродуктів водного середовища на мембраногенез в клітинах водяних рослин — хлорели, елодеї та ряски. Вперше описано механізм адаптації водяних рослин до дії хімічних речовин за рахунок утворення в їх клітинах вторинних концентричних мембран.

**

The article presents data on effects of some toxic factors (ions Zn^{2+} , Pb^{2+} and diesel fuel) on cellular membranes of freshwater plants. The mechanisms of adaptation of the freshwater plants due to the induced formation of the double concentric membrane was described for the first time.

**

1. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. 2-е изд. — М.: Мир, 1994. — Т. 1. — 465 с.

2. *Богнар О.І.* Адаптивні властивості водоростей за дії іонів металів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — К., 2008. — 22 с.
3. *Болдырев А.А.* Биологические мембраны и транспорт ионов. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1985. — 207 с.
4. *Верещагин А.Г.* Биохимия триглицеридов. — М.: Наука, 1972. — 307 с.
5. *Давыдова С.Л., Тагасов В.И.* Тяжелые металлы как супертоксиканты XXI века: Учеб. пособие. — М., 2002. — 140 с.
6. *Костюк К.В., Богнар О.І., Грубінко В.В.* Вплив іонів Zn^{2+} та Pb^{2+} на активність АТФ-аз у одноклітинної водорості *Desmodesmus communis* (*Scepedesmus quadricauda*) Brev. // Наук. зап. Терноп. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2008. — Вип. 2 (36). — С. 143—148.
7. *Крепс Е.М.* Липиды клеточных мембран. — Л.: Наука, 1981. — 144 с.
8. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидро-биологической практике /* Под ред. А.В. Топачевского. — Киев: Наук. думка, 1975. — 247 с.
9. *Мосин О.В.* О феномене клеточной адаптации к тяжелой воде. — 2007. — 7 с. Режим доступа: www.gaudeamus.omskcity.com/.../Mosin.
10. *Тяжелые металлы как фактор экологической опасности: Метод. указания /* Сост. Ю.А. Холопов. — Самара: СамГАПС, 2003. — 16 с.
11. *Финглей Дж., Эванз У.* Биологические мембраны. Методы. — М.: Мир, 1990. — 423 с.
12. *Чиркова Т.В.* Клеточные мембраны и устойчивость растений к стрессовым воздействиям // Соросов. образоват. журн. — 1997. — № 9. — С. 12—17.
13. *Чиркова Т.В.* Пути адаптации растений к гипоксии и аноксии. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1988. — 244 с.
14. *Baerwald R.J., Delcarpio J.B.* Double membrane-bounded intestinal microvilli in *Oncopeltus fasciatus* // Cell and Tissues Research. — 1983. — Vol. 232, N 3. — P. 593—600.
15. *Broda B.* Metody histochemii roslinnej. — Warszawa: Panstwowy zaklad wydawnictw lekarskich, 1971. — 255 p.
16. *Fawcett D.W., Ito S.* Observations on the cytoplasmic membranes of testicular cells examined by phase contrast and electron microscopy // J. Biophys. and Biochem. Cytol. — 1958. — Vol. 4, N 2. — P. 135—142.
17. *Ito H., Hanyaku H., Harada T., Tanaka S.* Fine structure in ascosporegenesis of freeze-substituted *Arthroderma simii* // Revista Iberoamericana de Micologia (Bilbao, Spain). — 2000. — Ap. 699, E-48080. — P. 13—16.
18. *Revels J.P., Ito S., Fawcett D.W.* Electron Micrographs of Myelin Figures of Phospholipide Simulating Intracellular Membranes // J. Biophys. and Biochem. Cytol. — 1958. — Vol. 4, N 4. — P. 495—501.
19. *Schmid K.M.* Lipid metabolism in plants. Chapter 4. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes / K.M. Schmid, J.B. Ohlrogge; eds. D.E. Vance, J.E. Vance. — Elsevier Science B.V., 2002. — P. 93—126.
20. *Tanaka S., Fujigaki T, Watanabe S.* Ultrastructure of the concentric membrane system in asci of *Arthroderma vanbreuseghemii* // Sabouraudia. — 1982. — Vol. 20, N 2. — P. 127—136.

21. *Tanaka S., Fujigaki T., Watanabe S.* Differentiation of the double membrane system during ascospore-maturation of *Arthroderma vanbreuseghemii* as revealed by periodic acid-alkaline bismuth staining // *Mycopathologia*. — 1984. — Vol. 86, N 1. — P. 55—58.
22. *Tiwari S.C., Polito V.S., Webster B.D.* In dry pear (*Pyrus communis* L.) pollen, membranes assume a tightly packed multilamellate aspect that disappears rapidly upon hydration // *Protoplasma*. — 1990. — Vol. 153, N 3. — P. 157—168.
23. *Xianjiang Kang, Shaoqin Ge, Mingshen Guo et al.* A transmission electron microscopy investigation: the membrane complex in spermatogenesis of *Fenneropenaeus chinensis* // *Cytotechnology*. — 2008. — Vol. 56, N 2. — P. 113—121.

Тернопольский национальный
педагогический университет

Поступила 01.06.11