

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ ОБМЕНА ПУРИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ ДЛЯ МОНИТОРИНГА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Г.Г.СЕМЕРДЖЯН., Г.А.СЕМЕРДЖЯН

gaysemerjyan@ysu.am

Нами изучалось влияние ионов тяжелых металлов (Cu^{++} , Cd^{++}) на активность аденин-деаминазы у 4 представителей моховидных *Pellia epiphylla* (L.) Lindb, *Tortula ruralis* (Hedw) Crome, *Brym capillare* Hedw, *Brachythecium campestre* (Bruch) B.S.G. Из полученных данных можно сделать вывод, что тяжелые металлы даже в незначительных концентрациях влияют на активность фермента адениндеаминазы.

Адениндеаминаза – мохообразные – ионы тяжелых металлов.

Ուսումնասիրվել են մամուռների Bryophyta, Bryaceae, Brachythecium ընտանիքների ներկայացուցիչների մոտ ադենին դեզամինազ ֆերմենտի ակտիվության վրա, ծանր մետաղների (Cu^{++} , Cd^{++}) իոնների ազդեցության պայմաններում: Բացահայտվել են որոշ օրինաչափություններ տարբեր մետաղների ազդեցության և մամուռանմանների տարբեր ներկայացուցիչների վրա:

Ադենինդեզամինազ – մամուռանմաններ – ծանր մետաղների իոններ

Morphological and physiological properties of mosses, along with their wide distribution make these plants very popular bioindicators to assess the state of the environment. Mosses are most effective at concentrating heavy metals and other trace elements. The process of deamination of adenine in homogenates of mossy plants of the family Bryophyta, Bryaceae, Brachythecium campestre was investigated. The effect of metal ions (Cu^{++} , Cd^{++}) for activity of studied enzymes. The ions Cu^{++} , Cd^{++} inhibit the activity of investigated enzyme.

Adenindeaminase – mosses – the ions of heavy metal

Морфологические и физиологические свойства мхов, наряду с широким их распространением (на земном шаре их произрастает от 22000-27000 видов) делают эти растения очень популярными биоиндикаторами для оценки состояния окружающей среды. Мхи эффективно концентрируют большинство тяжелых металлов и других микроэлементов, чувствительны к радиоактивным веществам. Загрязняющие вещества, поступившие в окружающую среду, вызывают развитие стрессовых реакций у растений. Мхи благодаря простоте организации одними из первых реагируют на изменение концентрации поллютантов в окружающей среде, им принадлежит существенная роль в процессах первичного перехватывания и аккумуляирования различных загрязнений. Под влиянием загрязнителей происходит нарушение баланса между механизмами запускающими окислительные реакции, и клеточной антиоксидантной защитой. В результате в тканях повышается концентрация активных форм кислорода, которые вызывают окисление клеточных структур [Рогова и др., 2011; Alison et al., 2012]. Особенностью моховидных является их простое внутреннее и внешнее строение – отсутствие корневой системы, низкий уровень дифференциации тканей. Мхи входят в состав биологической цепочки. Принимая во внимание особенности моховидных, в чрезвычайных условиях их нормальную жизнедеятельность, изменения ядерной ДНК, которая отражает эволюцию типов и стратегию существования, возник вопрос о рассмотрении и объяснении в этих организмах процесса деаминации аденина и аденозина, влияния ионов металлов на активность аденин- и аденозиндеаминазы с точки зрения мониторинга степени загрязненности окружающей среды [Серебрякова, 2007].

Отщепление аминокислот из аминокислот происходит как путем дезаминирования, трансаминирования, так и отщеплением аммиака с вовлечением ряда важных соединений (пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, триптофан, гистидин, глюкозамин и т.д.) в биосинтез, обеспечивая нормальный рост клеток. В литературе отсутствуют данные о дезаминировании азотистых оснований нуклеотидов у мховидных.

Материал и методика

Материалом для исследований послужили образцы сборов мховидных в разных растительных формациях, взятых с разнообразных экотопов Цахкуняцкого хребта и его отрогов. Исследовано 4 вида относящихся к двум классам и разным семействам отдела мховидных.

Нами исследовался процесс дезаминирования у мховидных класса

I. Marschantiopsida (Hepatidiopsida) сем. Pelliaceae, *Pellia epiphylla* (L.) Lindb

II. Класс Bryopsida (Musci) ,

1. Сем. Pottiaceae, *Tortula ruralis* (Hedw) Crome

2. Сем. Bryaceae, *Brum capillare*

3. Сем. Brachytecaceae, *Brachythecium campestre* (Bruch.) B.S.G.

Исследуемые мхи промывали в проточной воде, высушивали, тщательно измельчали, проводили 3-часовую экстракцию в 50% спиртовом растворе. Использовали листостебельную часть. Инкубацию проб проводили в условиях фосфатного буфера (pH = 7.4), в качестве субстрата применяли аденин, аденозин, инкубацию проводили в термостате при температуре 37°, в течение 1 часа 30 мин. Активность фермента определяли микродиффузионным методом Зелингсона в модификации Силаковой и сотрудников [1962]. Принцип метода заключается в вытеснении аммиака из исследуемой жидкости, находящейся в герметически закупоренных сосудах, вращающихся на ротаторе со скоростью 60-70 об/мин, с помощью насыщенного раствора КОН и в последующей его абсорбции на стеклянных палочках, предварительно смоченных 1N серной кислотой. Через 45 мин. их промывали водой и в элюате определяли аммиак колориметрическим методом с помощью реактива Несслера. Интенсивность окраски измеряли на фотоэлектроколориметре при длине волны 440 нм. При составлении калибровочной кривой использовали стандартные растворы сернокислого аммония.

Результаты и обсуждение.

В некоторых организмах аденин путем гидролиза при действии ферментов аденидезаминазы расщепляется на аммиак и гипоксантин. Отщепление аминокислот из аминокислот происходит как путем дезаминирования, трансаминирования, так и высвобождением аммиака, который вовлекается в биосинтез ряда важных соединений (пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, триптофан, гистидин, глюкозамин и др.) обеспечивающих нормальный рост клеток.

В литературе отсутствуют данные о дезаминировании аминокислот, азотистых оснований нуклеотидов, а также относительно ферментативных систем обеспечивающих эти реакции у мхообразных. Следует отметить, что мхообразные способны накапливать тяжелые металлы. Загрязнение окружающей среды – это один из первоочередных вопросов современного человечества. Одним из наиболее существенных факторов загрязнения среды являются химические вещества, которые способны вызывать нарушения и разрушения биосферы. К числу особенно опасных загрязнителей химического характера относятся тяжелые металлы. Для них

характерны высокая токсичность, мутагенный и канцерогенный эффекты. Тяжелые металлы опасны тем, что способны накапливаться в живых организмах и передаваться по пищевым цепям. Таким образом, в зоне особой опасности находится человек, который как правило, возглавляет эти цепи, а следовательно, получает наибольшее количество токсичных веществ. В связи с вышеуказанными причинами возникает необходимость в регулярном контроле за состоянием окружающей среды на предмет содержания тяжелых металлов и других токсичных элементов для оценки загрязнения. Исходя из мирового опыта, для биоиндикационных целей достаточно хорошо подходят мохообразные [Harmens. H. 2010; Gadzolis et all. 2016].

Нами изучалось влияние ионов тяжелых металлов (Cu^{++} , Cd^{++}) на активность адениндезаминазы у 4 представителей моховидных *Pellia epiphylla* (L.) Lindb, *Tortula ruralis* (Hedw) Crome, *Brym capillare* Hedw, *Brachythecium campestre* (Bruch) B.S.G.

При исследовании влияния ионов Cd^{++} на активность адениндезаминазы наблюдается следующая закономерность: у представителя семейства *Fossombroniaceae* *Pellia epiphylla* (L.) Lindb, семейства *Pottiaceae* *Tortula ruralis* (Hedw) Crome наблюдается 95% ингибирование исследуемого фермента, а у представителей семейств *Bryaceae* и *Brachytheciaceae* фермент ингибируется на 67%, а при концентрации ионов Cd^{++} в 5.0 мМ во всех исследуемых мхах происходит полное ингибирование активности фермента адениндезаминазы. Далее исследовалось влияние ионов Cu^{++} на активность фермента адениндезаминазы. У *Pellia epiphylla* (L.) Lindb при концентрации ионов Cu^{++} в 2.5 мМ наблюдается почти 95% ингибирование активности исследуемого фермента, у *Tortula ruralis* (Hedw) Crome – 70% ингибирование, а у *Brym Capillare* Hedw на 85%.

Таблица1. Влияние ионов Cd^{++} на активность адениндезаминазы у различных представителей моховидных (активность выражена в мкмольх на 1г свежей ткани. Приведены также % активности проб без добавления ионов, n=3, p<0.05)

Объект	Концентрация ионов Cd , mM											
	0.00		0.25		0.5		1.0		2.5		5.0	
	активность	%	активность	%	активность	%	активность	%	активность	%	актив-ность	%
<i>Pellia epiphylla</i> (L.)Lindb	10.35±0.02	100	9.40±0.1	90.8	6.2±0.03	59.9	3.0±0.0.01	28.9	0.5±0.01	4.83	-	-
<i>Tortula ruralis</i> (Hedw) Crome	28.40±0.01	100	25.8±0.2	90.8	20.03±0.4	71.4	13.5±0.2	47.5	1.0±0.02	3.52	-	-
<i>Brum capillare</i> (Hedw)	15.34±0.1	100	13.3±0.01	86.7	10.1±0.01	65.8	8.3±0.4	54.1	3.3±0.01	21.5	-	-
<i>Brachythecium campestre</i> (Bruch.)B.S.G	20.50±0.3	100	17.2±0.14	83.9	13.0±0.2	63.41	10.±0.1	48.7	6.7±0.03	32.6	-	-

Таблица 2. Влияние ионов Cu^{++} на активность адениндезаминазы у различных представителей моховидных (активность выражена в мкмольх на 1г свежей ткани. Приведены также % активности проб без добавления ионов, $n=3$, $p<0.05$)

Объект	Концентрация ионов Cu , мМ											
	0.00		0.25		0.5		1.0		2.5		5.0	
	активность	%	активность	%	активность	%	активность	%	активность	%	активность	%
<i>Pellia epiphylla</i> (L.) Lindb	10.35±0.02	100	8.47±0.01	81.8	7.97±0.03	77.0	3.47±0.01	33.5	0.47±0.05	4.54	-	-
<i>Tortula ruralis</i> (Hedw) Crome	28.40±0.01	100	26.52±0.10	93.3	23.02±0.4	81.0	20.52±0.2	72.2	16.52±0.01	58.16	12.10±0.03	42.6
<i>Brum capillare</i> (Hedw)	15.34±0.1	100	13.46±0.03	87.7	12.96±0.2	84.4	8.46±0.13	55.1	4.03±0.04	26.2	1.10±0.2	13.68
<i>Brachythecium campestre</i> (Bruch.) B.S.G	20.50±0.3	100	18.62±0.01	90.8	17.12±0.01	88.7	13.62±0.03	66.4	10.03±0.18	50.24	6.02±0.10	29.3

Таким образом исходя из полученных данных можно сделать вывод, что тяжелые металлы даже в незначительных концентрациях влияют на активность фермента дезаминирующего аденин. Определение активности фермента в исследуемых моховидных можно использовать как тест при определении степени загрязнения окружающей среды, что очень важно при экологическом мониторинге загрязнении окружающей среды тяжелыми металлами.

Литература

1. Рогова Н.С., Рыжакова Н.К., Борисенко А.Л., Меркулов В.Г. Изучение аккумуляционных свойств мхов, используемых при мониторинге загрязнения атмосферы. «Оптика атмосферы и океана», 24, N1, 2011.
2. Серебрякова Н.Н. Влияние ксенобиотиков на физиологию и биохимию листовых мхов. 2007.
3. Силакова А.С., Труш Г.П., Являкова А.А. Микрометод определения аммиака и глутамина в тканевых трихлоруксусных экстрактах. Вopr. Мед. Химии. N5, стр.538. 1962.
4. Alison W. Roberts., Eric M. Roberts and Candance H.Haigler. Moss cell walls: structure and biosynthesis. Frounters in plant science, mini review article, 2012.
5. Gatzolis D., Jovan S., Donovan G., Amacher M., Monleon V. Elemental atmospheric pollution assessment via moss-based measurements in Portland, Oregon. Pacific Northwest Research Station, General Technical Report, June 2016.
6. Harmens. H. 2010. Monitoring of atmospheric deposition of heavy metals, nitrogen and pops in Europe using bryophytes. [monitoring manual 2010 survey]. [online]: Available from Internet.