

Proteinové profily u rostlin vystavených β -hexachlorcyklohexanu

PROTEIN PROFILES IN PLANTS EXPOSED TO β -HEXACHLOROCYCLOHEXANE

Soňa Křížková¹, Olga Kryštofová¹, Ladislav Havel¹, Miroslava Beklová², René Kizek¹

¹Mendelova univerzita v Brně; ²Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně

Znečištění životního prostředí těžkými kovy a perzistentními organickými polutanty je aktuální a velmi závažný problém. Hexachlorcyklohexan (HCH) je díky svým vlastnostem zařazován jak do skupiny perzistentních organických polutantů (POPs), tak do skupiny těkavých organických látek (VOCs). Jedním z nejšetnějších a nejlevnějších způsobů pro odstranění HCH a ostatních POPs z půdy je fytoremediace. Úspěšnost fytoremediace závisí především na výběru rostlinného druhu, který je schopen tolerovat vysokou koncentraci toxických látek a produkce dostatečného množství biomasy.

Materiál a metody

V experimentech byly použity 14 dní staré rostliny kukuřice seté (*Zea mays* L.) F1 hybrid Gila. Obilky byly naklíčeny ve tmě na vlhkém filtračním papíře po dobu sedmi dnů při teplotě 23 ± 2 °C. Poté byly klíčící rostlinky kultivovány ve vodě v kultivačním boxu při 24 °C, vlhkosti vzduchu 71–78 % a maximální intenzitě světla $200 \mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($14 \text{ hod} \cdot \text{d}^{-1}$) po dobu sedmi dnů. Následně byla voda v truhlících nahrazena roztoky β -HCH o koncentracích 0, 10, 25 a 50 $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$. Experiment trval dvanáct dní a 4., 6., 8., 10. a 12. den bylo odebíráno 6 rostlin kukuřice od každé varianty.

Výsledky a diskuze

Byly pozorovány změny proteinového zastoupení jak v nadzemní, tak i v podzemní části rostlin. V případě listové části ve

srovnání s kontrolou byl pozorován nárůst zastoupení proteinu o velikosti 24, 20 a 15 kDa v závislosti na koncentraci β -HCH. V případě kořenové části byl pozorován nárůst zastoupení proteinu o velikosti 36 a 29 kDa v závislosti na koncentraci β -HCH. Změny byly patrné po dobu celého experimentu, nejvýraznější však byly poslední, tj. 12. den. Z tohoto důvodu byly tyto vzorky vybrány pro další analýzu. Po analýze gelů v programu Biolight jsme byli schopni stanovit intenzitu jednotlivých proužků, jejich velikost a získali jsme denzitometrické křivky pro jednotlivé dráhy. Pro srovnání signálů jsme použili proužek o velikosti 60 kDa, jehož intenzita byla konstantní. Výraznější změny byly zaznamenány v nadzemních částech rostlin, zatímco v kořenových částech byly změny méně patrné. Výraznější změny v nadzemní části ukazují, že β -HCH je ukládán především v nadzemní části rostliny, což je výhodné pro fytoremediaci. Z výsledků je patrné, že matematické zpracování elektroforeogramů poskytuje nové možnosti ve využití této metody v proteomice, především díky možnosti kvantifikace signálů, srovnání jednotlivých gelů a analýze denzitometrických křivek. Podobný postup byl použit také pro kvantifikaci alergenů v burských oříšcích, pro kvantifikaci vysokomolekulárních podjednotek gluteninu a pro identifikaci rozdílů ve vzorcích mléka. Jedná se o poměrně rychlou a nenáročnou metodu, která může poskytnout orientační výsledky při hodnocení odolnosti rostlin proti organickým polutantům, např. při výběru rostlin pro fytoremediaci.

Poděkování: Tato práce byla financována ze zdrojů IGA TP 1/2010, GA ČR 522/09/0239 a MSMT 6215712402.

**Křížková S., Kryštofová O., Havel L., Beklová M., Kizek R.:
Protein profiles in plants exposed to β -hexachlorocyclohexane**

Environmental pollution by heavy metals and persistent organic pollutants is an actual and serious problem. Hexachlorocyclohexane (HCH) similarly to other POPs can be released from dangerous refuse dumps, old stocks of agrochemicals and pesticide producers or by soil erosion. HCH in low concentrations was determined in both in streams and groundwater's near to dangerous refuse dumps. Phytoremediation is one of the most environmental friendly techniques to remove POPs from the soils. Its success is dependent primarily on the selection of appropriate plant species tolerant to high concentrations of toxic compounds and producing high amount

of biomass. Exposition to toxic compounds is connected to complex reaction based on proteomic changes. In this work the possibilities of mathematical processing of SDS-PAGE electroforeograms of protein extracts of maize (*Zea mays* L.) exposed to β -hexachlorocyclohexane in concentrations 0, 10, 25 and 50 ng.l⁻¹ for 12 days are shown.

Key words: β -hexachlorocyclohexane, maize, SDS-PAGE, mathematical processing, persistent organic pollutants, proteomics.

Kontaktní adresa – Contact address:

Ing. Soňa Křížková, Mendelova univerzita, Ústav chemie a biochemie, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika; e-mail: sonakriz@seznam.cz