

ЗМІНИ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ МЕРИСТЕМНИХ КЛІТИН КОРЕНІВ КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ ІОНІВ НІКЕЛЮ

Л. Богуславська*, Л. Шупранова

*Науково-дослідний інститут біології Дніпропетровського
національного університету імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: milbo@rambler.ru*

Досліджено зміни амінокислотного складу водорозчинних білків за дії іонів нікелю. Рівень накопичення амінокислот у меристемних клітинах коренів кукурудзи залежав від концентрації ксенобіотика та терміну проростання, а загальною закономірністю впливу іонів нікелю було зниження вмісту аргініну, лейцину, аланіну та підвищення вмісту гістидину, цистеїну, серину, проліну і валіну.

Ключові слова: корені, меристеми, водорозчинні білки, амінокислоти.

Одним із поширених важких металів, які забруднюють навколишнє середовище, є нікель [1, 4]. Надлишок нікелю в середовищі швидко позначається на морфогенезі кореневої системи, викликаючи гальмування росту кореня, хромосомні аберації та різні порушення у структурі й метаболізмі клітин [1, 3, 4, 7]. Одним із важливих чинників, що забезпечують біохімічну адаптацію організмів до змін навколишнього середовища, є метаболізм амінокислот [2, 5, 7]. У літературі особлива увага приділяється складу та динаміці накопичення вільних амінокислот [5, 6], складу амінокислот сумарного білка зерна, вегетативних органів на різних етапах онтогенезу [5], але дані щодо амінокислотного складу білків різних частин органів рослин за дії антропогенних чинників вкрай обмежені. Метою роботи було дослідження вмісту білкових амінокислот твірних тканин кореня кукурудзи за дії іонів нікелю на різних етапах онтогенезу.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження був амінокислотний склад водорозчинних білків меристемних клітин коренів гібрида кукурудзи Дніпровський 310 МВ через 48, 96 і 144 год проростання на середовищі з іонами нікелю різної концентрації (1×10^{-4} моль/л, 1×10^{-5} моль/л, $3,4 \times 10^{-6}$ моль/л) та на воді (контроль). Білки виділяли дистильованою водою. Амінокислотний склад визначали на аналізаторі амінокислот АААТ-339 (Чехія).

Результати і їхнє обговорення

Аналіз отриманих даних свідчить про неоднаковий вплив різних концентрацій нікелю на форму кривих залежності вмісту амінокислот від тривалості дії ксенобіотика.

Так, динаміка зміни вмісту дикарбонових амінокислот (аспартат, глутамат) за низької концентрації нікелю мала протилежний характер, а при середній і високій – однаковий. Дія іонів нікелю проявлялась як у підвищенні, так і у зменшенні вмісту основних амінокислот (лізин, гістидин, аргінін). Характер динаміки змін вмісту лізину був подібний за дії концентрацій нікелю у низькій і середній дозі: підвищення на 48 (на 12 і 16% відповідно), зниження на 96 (на 15 і 9% відповідно) і знову підвищення на 144 год (на 11 і 14% відповідно). За дії високої концентрації ксенобіотика вміст лізину був зменшений на всіх стадіях проростання кукурудзи (на 5–17%). Для аргініну характерним було суттєве зменшення його вмісту на початкових стадіях росту (на 18–34%) і підвищення на останній (на 6–11%).

Підвищення вмісту гістидину в апікальній меристемі кореня кукурудзи зареєстроване при середній і високій концентраціях нітрату нікелю протягом усього періоду спостереження, а при концентрації $3,4 \times 10^{-6}$ моль/л – тільки на 48 год. Відомо, що гістидин активно включається в синтез білків, входить до складу ферментативно активних і гідрофільних білків, а також цитохромів с мітохондрій, а також бере участь в утворенні енергоносіїв типу АТФ при окислювальному фосфорилуванні. Крім того, молекули гістидину входять в активні центри ферменту глутамінсинтетази, яка бере участь у біосинтезі глютаміну. У процесі ферментативної реакції молекули гістидину беруть участь у зв'язуванні двох субстратів – глютаму і АТФ. Серед сірковмісних амінокислот суттєво підвищеним був вміст цистеїну. Особливо велике його нагромадження (більше ніж у 3,5 разу) відзначається за умов дії високої концентрації нікелю. Відомо, що важливу роль у детоксикації іонів важких металів відіграють металотіонеїни, які мають високий вміст цистеїну, здатні зв'язувати важкі метали, що сприяє виживанню рослини. У той же час вміст метіоніну знижується протягом проростання, що є особливо вираженим для дії високої концентрації нікелю. На останній стадії спостереження рівень метіоніну при всіх концентраціях ксенобіотика знижений однаковою мірою (у середньому на 76%). Зареєстровано підвищений або на рівні контролю вміст серину. Найбільший його вміст (в 1,5 разу більше за контроль) встановлено на останній фазі спостереження і при найбільшій концентрації нікелю. Динаміка змін вмісту тирозину за умов дії низької, середньої та високої концентрації нікелю мала протилежний характер: якщо для перших двох варіантів вміст цієї амінокислоти знижувався від 6,8 до 3,8; 4,6% відповідно, то для третього варіанта цей показник поступово збільшувався: від 4,5 до 6,1%.

Крива динаміки вмісту фенілаланіну була практично однаковою для всіх досліджуваних концентрацій токсиканта: на першій стадії спостереження зниження цього показника, на другій – різке підвищення, а на останній знову зниження, але значення були або близькими до контролю (у випадку першого і третього варіантів концентрацій), або значно нижчими (у випадку другого варіанта). Практично у всіх випадках вміст лейцину і аланіну був знижений, у той час як валіну – підвищений або близький до контролю. Значно відрізнявся від інших за динамікою вмісту ізолейцину: у третьому варіанті дослідження, за високої концентрації ксенобіотика вміст ізолейцину був значно підвищений (на 59,4%) на 48 год, потім знижувався, але був практично на рівні контролю і знову підвищувався (на 27,4%) на останньому етапі спостереження. Для концентрації іонів нікелю $3,4 \times 10^{-6}$ моль/л вміст ізолейцину спочатку знижувався на 17% (48 год), потім перевищував контроль на 84 і 13,3% відповідно до другого і третього етапів спостереження. Вміст треоніну і гліцину в першому варіанті протягом проростання поступово знижувався. При другому варіанті (1×10^{-5} моль/л) криві динаміки вмісту цих амінокислот були протилежними, а при високій концентрації нікелю їх рівень знижувався у випадку треоніну від 4,9 до 4,1%, а гліцину від 5,0 до 4,0% (у контрольних зразків вміст підвищувався від 5,3 до 6,1%). За впливу всіх концентрацій іонів нікелю вміст проліну на першій стадії спостереження виявився дещо нижчим за контроль (на 6–12%), але у подальшому спостерігалось різке підвищення цього показника при всіх варіантах обробки нікелем рослин кукурудзи.

Отже, дія іонів нікелю практично у всіх випадках дослідження спричинювала зниження вмісту аргініну, лейцину, аланіну та підвищення вмісту гістидину, цистеїну, серину, проліну і валіну. Загальною закономірністю впливу всіх досліджених концентрацій нікелю є підвищений вміст проліну, валіну та цистеїну, що можна вважати специфічною реакцією клітин меристеми на вплив ксенобіотиків. Крім того, за дії усіх досліджених варіантів

Амінокислотний склад водорозчинних білків меристемних тканин коренів
рослин кукурудзи за дії іонів важких металів

Концентрації важких металів, моль/л	Амінокислоти, %																
	Асп	Тре	Сер	Глу	Про	Глі	Ала	1/2 Цис	Вал	Мет	Іле	Лей	Тир	Фен	Гіс	Ліз	Арг
Контроль	9,36	4,23	5,60	15,60	5,66	5,27	6,57	0,69	5,42	2,03	4,09	7,70	5,85	5,02	4,29	6,64	5,97
$\text{Ni}^{2+} 1 \times 10^{-4}$	10,21	4,91	5,84	17,31	5,32	5,00	5,52	0,68	6,01	1,44	6,52	6,79	4,49	4,63	4,58	6,41	4,37
$\text{Ni}^{2+} 1 \times 10^{-5}$	10,00	4,44	6,10	18,38	5,31	4,88	6,34	0,92	5,45	2,07	3,35	5,55	6,74	3,54	4,65	7,73	4,56
$\text{Ni}^{2+} 3,4 \times 10^{-6}$	10,08	4,03	5,95	18,56	5,01	4,85	6,32	1,08	5,29	2,73	3,41	5,56	6,79	3,66	5,22	7,41	4,07
Контроль	10,41	4,53	5,47	16,47	4,35	5,06	5,99	0,63	5,30	1,98	4,06	6,88	6,20	4,13	4,06	8,71	5,51
$\text{Ni}^{2+} 1 \times 10^{-4}$	9,71	4,13	6,88	16,20	6,49	5,49	5,83	0,65	5,72	1,54	3,83	6,21	5,25	5,11	5,17	7,26	4,53
$\text{Ni}^{2+} 1 \times 10^{-5}$	9,76	3,64	5,22	16,39	5,69	5,52	5,81	0,81	5,52	2,34	4,40	6,27	4,70	4,89	5,16	7,93	5,96
$\text{Ni}^{2+} 3,4 \times 10^{-6}$	12,46	4,24	6,38	18,58	5,73	4,44	5,06	0,89	5,21	2,26	4,04	5,76	5,91	4,77	3,28	7,36	3,64
Контроль	8,60	4,67	5,36	15,17	3,90	6,10	7,23	0,54	5,92	2,26	4,30	6,95	5,16	4,70	5,51	9,61	4,08
$\text{Ni}^{2+} 1 \times 10^{-4}$	8,10	4,14	5,35	14,49	5,77	4,01	6,34	1,89	5,73	0,62	5,48	6,63	6,07	4,25	7,78	9,03	4,32
$\text{Ni}^{2+} 1 \times 10^{-5}$	8,14	4,91	8,11	14,09	6,16	5,75	7,17	0,84	5,89	0,52	4,05	6,18	3,81	2,57	6,72	10,91	4,21
$\text{Ni}^{2+} 3,4 \times 10^{-6}$	10,73	4,14	6,16	13,06	5,63	4,86	6,09	0,87	6,16	0,49	4,87	7,10	4,62	4,46	5,60	10,63	4,54

нікелю спільним було підвищення вмісту серину та гістидину. Підвищене включення цих амінокислот до гідрофільних білків за умов стресу свідчить про їхнє важливе значення у пристосувальних процесах клітин тврної тканини коренів кукурудзи. Неспецифічною реакцією на хімічний стрес клітин меристеми можна вважати також зниження вмісту лейцину, що було характерним для всіх без винятку варіантів досліду. У той же час дія іонів нікелю проявлялася також у зниженні вмісту аланіну й аргініну.

Таким чином, встановлено, що в результаті дії важкого металу відбуваються зміни у динаміці накопичення практично всіх білкових амінокислот, що, можливо, пов'язано з активними перебудовами у білковій системі, спрямованими на детоксикацію ксенобіотика та підтримку гомеостазу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Амосова Н. В., Тазина И. А., Сынзыныс Б. И. Фито- и генотоксическое действие ионов железа, кобальта и никеля на физиологические показатели растений различных видов // С.-х. биология. 2003. №5. С. 49–54.
2. Кузнецов В. В. Физиология растений. М.: Высш. шк., 2006. 742 с.
3. Серегин И. В. Токсическое действие и распределение никеля в корнях кукурузы // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 5. С. 793–800.
4. Серегин И. В. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48. № 4. С. 606–630.
5. Brown P. H., Welch R. M., Madison J. T. Effect of nickel deficiency on soluble anion, amino acid and nitrogen levels in barley // Plant Soil. 1991. Vol. 98. P. 1222–1227.
6. El-Shintinawy F., El-Ansary A. Differential effect of Cd²⁺ and Ni²⁺ on amino acid metabolism in soybean seedlings // Biol. Plant. 2000. Vol. 43. N 1. P. 79–84.
7. Kramer U. The Role of Metal Transport and Tolerance in Nickel Hyperaccumulation by *Thlaspi goesingense* Halacsy // Plant Physiol. 1997. Vol. 115. P. 1641–1650.

Стаття: надійшла до редакції 18.02.11

доопрацьована 18.04.11

прийнята до друку 19.04.11

**CHANGES OF AMINO ACID STRUCTURE IN MERISTEMATIC CELLS
OF MAIZE ROOTS UNDER THE ACTION OF NICKEL IONS****L. Boguslavska, L. Shupranova**

*Biology Research Institute of Oles Honchar Dnipropetrovsk National University
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine
e-mail: milbo@rambler.ru*

Changes of bound amino acids content of water-soluble proteins in meristematic cells of maize seedlings roots under the action of lead ions was investigated. Level of amino acid accumulation was dependent on xenobiotic concentration and time of germination. General tendency of nickel ions action was decrease of arginine, leucine, alanine content and increase of histidine, cysteine, serine, praline and valine amount.

Key words: Zea mays L., meristem, amino acids, cells, nickel.

**ИЗМЕНЕНИЯ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА МЕРИСТЕМАТИЧЕСКИХ
КЛЕТОК КОРНЯ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ НИКЕЛЯ****Л. Богуславская, Л. Шупранова**

*Научно-исследовательский институт биологии Днепропетровского национального университета имени Олеса Гончара
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина
e-mail: milbo@rambler.ru*

Исследованы изменения содержания связанных аминокислот водорастворимых белков меристематических клеток корней проростков кукурузы при действии ионов никеля. Уровень накопления аминокислоты зависел от концентрации ксенобиотика и времени прорастания. Общей закономерностью влияния ионов никеля было снижение содержания аргинина, лейцина, аланина и повышение количества гистидина, цистеина, серина, пролина и валина.

Ключевые слова: Zea mays L., меристема, аминокислоты, клетки, никель.