

ECOLOGY
AND NOOSPHEROLOGY

ISSN 1726-1112 (Print)
ISSN 2310-4309 (Online)
Ecol. Noospher., 33(2), 68–73
doi: 10.15421/032211

Amino acid composition of proteins of meristem cells of maize roots under the combined action of lead, cadmium and nickel ions

L. V. Bohuslavska*, L. V. Shupranova**, K. K. Holoborodko**, O. M. Kunakh**

**Municipal educational institution Educational association No. 28 "Gymnasium-school of the 1st degree, a preschool educational institution (nursery-kindergarten) – center of extracurricular work" of the Dnipro City Council, Dnipro, Ukraine*
***Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine*

Article info

Received 23.09.2022
Received in revised form 20.10.2022
Accepted 29.10.2022

Municipal educational institution Educational association No. 28 "Gymnasium-school of the 1st degree, a preschool educational institution (nursery-kindergarten) – center of extracurricular work" of the Dnipro City Council, St. Heroes of Rescuers, 12, Dnipro, 49050, Ukraine.
Tel.: +38-067-910-80-98
E-mail: milbogus@gmail.com

Oles Honchar Dnipro National University, Gagarin Ave., 72, Dnipro, 49010, Ukraine.

Bohuslavska, L. V., Shupranova, L. V., Holoborodko, K. K., Kunakh, O. M. (2022). Amino acid composition of proteins of meristem cells of maize roots under the combined action of lead, cadmium and nickel ions. Ecology and Noospherology, 33(2), 68–73. doi:10.15421/032211

Heavy metals are one of the main causes of plant damage. The main route of entry of metals into plants is their absorption by the root system from the soil. The accumulation of heavy metals in plants disrupts the flow of biochemical processes. Amino acid metabolism is one of the important factors that ensure biochemical adaptation of organisms to environmental changes. Therefore, the aim of the work was to study the content of protein amino acids in the generative tissues of the maize root under the combined action of lead, cadmium and nickel ions at the early stages of ontogenesis. To assess the impact of heavy metals, two-day-old corn seedlings were transplanted to solutions with heavy metal ions of various concentrations, both individually and in a mixture. The content of protein amino acids in the meristem was characterized by significant variation associated with both quantitative and qualitative changes in the composition of water-soluble proteins during germination. The level of accumulation of amino acids in the meristem cells of maize roots depended on the concentration of the xenobiotic and the germination period, and the general regularity of the influence of nickel ions was a decrease in the content of arginine, leucine, alanine and an increase in the content of histidine, cysteine, serine, proline, and valine. During the period of germination, the qualitative amino acid composition of plants did not change, while the quantitative content of individual amino acids varied greatly. Various increases in the content of dicarboxylic amino acids (glutamate and aspartate) testify to the intensification of metabolic processes under the influence of the studied substances. However, it cannot be excluded that the increase in the content of glutamic and aspartic acids is associated with a decrease in the speed of their utilization. In addition, heavy metals caused an increase in the content of amino acids of the ornithine cycle (arginine) and the end product of the cycle (proline) to varying degrees. Proline is an amino acid that has a stress-protective effect due to the binding of proline aggregates to surface hydrophobic residues of proteins, which prevents their denaturation. Perhaps a similar protective effect of proline occurs in the case, which is being considered.

Keywords: Zea mays L.; roots; meristem; water-soluble proteins; amino acids

Амінокислотний склад білків меристемних клітин коренів кукурудзи за комбінованої дії йонів свинцю, кадмію та нікелю

Л. В. Богуславська*, Л. В. Шупранова**, К. К. Голобородько**, О. М. Кунах**

**Комунальний заклад освіти Навчально-виховне об'єднання №28 «Гімназія-школа 1 ступеня – дошкільний навчальний заклад (ясла-садок)-центр позашкільної роботи» Дніпровської міської ради, Дніпро, Україна*
***Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, Україна*

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

свідчать про інтенсифікацію метаболічних процесів за дії досліджуваних речовин. Проте не можна виключати, що зростання вмісту глютамінової та аспарагінової кислот пов'язане зі зниженням швидкості їх утилізації. Окрім того, важкі метали викликали збільшення різною мірою вмісту амінокислот орнітинового циклу (аргініну) та кінцевого продукту циклу (проліну). Пролін – амінокислота, яка має стрес-протекторну дію за рахунок зв'язування агрегатів проліну з поверхневими гідрофобними залишками білків, що перешкоджає їх денатурації. Можливо, схожа захисна дія проліну має місце й у випадку, що розглядається.

Ключові слова: Zea mays L.; корені; меристеми; водорозчинні білки; амінокислоти

Вступ

Стрімка урбанізація та індустріальний розвиток, пов'язані з інтенсивним добуванням, переробкою та використанням металів, призвели до істотного збільшення їхнього розповсюдження в навколишньому середовиші: у грунті, гідросфері та атмосфері (Kabata-Pendias, 2000; Järup, 2003; Antonyak, 2015). Такі зміни супроводжуються посиленням впливу металів насамперед на рослини.

Хімічні елементи, без яких не завершується життєвий цикл рослинних організмів, називають основними, або життєво необхідними. Деякі важкі метали є основними мікроелементами: кобальт (Co), мідь (Cu), молібден (Mo), цинк (Zn), нікель (Ni), манган (Mn), залізо (Fe), оскільки вони в мікрокількостях необхідні для росту і розвитку рослин (Hall, 2003; Topchiy, 2010). Ці метали є кофакторами багатьох ферментів. Однак за певного рівня накопичення цих металів у клітинах виявляється їх негативний вплив. Біологічна функція інших важких металів – свинцю (Pb), ртуті (Hg), кадмію (Cd), бісмуту (Bi) досі ще не з'ясована. Їх токсична дія виявляється практично вже за слідових концентрацій. Основний шлях надходження металів в рослини – їх поглинання кореневою системою з ґрунту. Частина металів зв'язується з органічним матеріалом ґрунту і стає недоступною для рослин. Інші залишаються в іонній формі і можуть надходити в кореневу систему. Іони металів поглинаються кореневою системою за механізмами пасивної дифузії та активного транспорту залежно від кислотності ґрунту, вмісту в ньому органічних речовин, вапна, макро- і мікроелементів, вологоємності, гранулометричного складу (Seregin, 2006; Topchiy, 2010).

Надлишок іонів важких металів у середовищі швидко позначається на морфогенезі кореневої системи, викликаючи гальмування росту кореня, хромосомні аберації та різні порушення у структурі й метаболізмі клітин (Kramer, 1997; Seregin, 2001; Amosova, 2003; Seregin, 2003). Одним із важливих чинників, що забезпечують біохімічну адаптацію організмів до змін навколишнього середовища, є метаболізм амінокислот (Kramer, 1997; Kuznetsov, 2006). У літературі особлива увага приділяється складу та динаміці накопичення вільних амінокислот (El-Shintinawy, 2000), складу амінокислот сумарного білка зерна, вегетативних органів на різних етапах онтогенезу, але дані щодо амінокислотного складу білків різних частин органів рослин за дії антропогенних чинників вкрай обмежені (Boguslavska, 2011, 2012).

Метою роботи було дослідження вмісту білкових амінокислот твірних тканин кореня кукурудзи за комбінованої дії йонів свинцю, кадмію та нікелю на ранніх етапах онтогенезу.

Матеріали та методи досліджень

У лабораторних експериментах об'єктами дослідження були рослини гібриду кукурудзи (*Zea mays* L.) Дніпровський-310 (середньостиглий). Для постановки модельного експерименту відбирали неушкоджені зерна кукурудзи в кількості 100–150 зерен на кожний зі зразків. Зерно обробляли розчином перманганату калію, замочували протягом 4 годин, потім пророщували у термостаті (t= + 27 ^{0}C ± 2 ^{0}C) протягом двох діб у проточній воді до появи коренів. Після цього проростки пересаджували на досліджувані середовища з іонами нітратів свинцю ($Pb(NO_3)_2$), кадмію ($Cd(NO_3)_2 \cdot 4\ H_2O$) та нікелю ($Ni\ NO_3)_2 \cdot 6H_2O$). Досліджувані концентрації металу підбирали шляхом максимально наближених доз у навколишньому середовищі, а також тих концентрацій, вплив яких викликає у рослин видимий токсичний ефект, але в цілому рослинний організм здатен розвиватися надалі. Серед металів були обрані саме нітрати, тому що ці сполуки містять звичну для рослин форму азоту. Дводобові паростки кукурудзи пересаджували на середовища з нітратами свинцю, кадмію та нікелю (досліджувані варіанти: контроль (дистильована вода); Pb^{2+} – $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л; Cd^{2+} – $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л; Ni^{2+} – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; Cd^{2+} – $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л + Pb^{2+} – $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л + Ni^{2+} – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л). Відбір тканин проводили на 5-ту, 7-му та 9-ту доби проростання. Для екстракції водорозчинних білків наважку 0,1 г гомогенізованого матеріалу заливали 1 мл дистильованої води, центрифугували протягом 15 хв. зі швидкістю 15 000 об/хв. Отриманий супернатант зливали у пробірки для подальшого дослідження. Для визначення амінокислотного складу зразки гідролізували протягом 24 год 5,7 н HCI за температури 110 ^{0}C у вакуумі. Амінокислотний склад меристемних білків проводили на автоматичному аналізаторі амінокислот Т-399 (ЧССР).

Результати та їх обговорення

Одним із важливих чинників, що забезпечують біохімічну адаптацію організмів до змін навколишнього середовища, є метаболізм амінокислот (Kosakovskaya, 2008). Вміст білкових амінокислот у меристемі характеризувався значним варіюванням, пов'язаним як з кількісними, так і з якісними змінами складу водорозчинних білків у процесі проростання.

Вміст аспартату за сумісної дії ксенобіотиків на першій стадії спостереження мав величину подібну до дії нікелю. На 7-му добу його вміст різко підвищувався (на 62 %) і далі знижувався, але був вищим, ніж контроль, на 18 % (рис. 1). Динаміка вмісту глутамату мала протилежний характер: він суттєво підвищувався на 5-ту добу (на 43 %), а потім його величина знизилася та становила 97 % до контролю (рис. 1).

Динаміка змін вмісту лізину (рис. 2) за сумісної дії важких металів на всіх стадіях спостереження була подібною до дії йонів кадмію й нікелю: поступовий підйом протягом усього періоду проростання, хоча всі значення були нижчими, ніж контроль. Іони свинцю, навпаки, спричинювали падіння вмісту лізину, що на третій стадії спостереження дорівнювало 58 % від контролю. Зміни вмісту аргініну (рис. 2) були подібними до змін цього показника у лізину. Різниця в тому, що на 7-му добу за сумісної дії вміст аргініну був найнижчим серед усіх досліджених варіантів на 65 %. На відміну від окремої дії важких металів, сумісний вплив на вміст гістидину (рис. 2) призводив до його різкого падіння на 7-му добу (на 47 %), у той час як індивідуальна дія в цей період викликала підйом вказаного показника. На 9-ту добу вміст гістидину за сумісної дії та впливу йонів кадмію був близький до контролю.

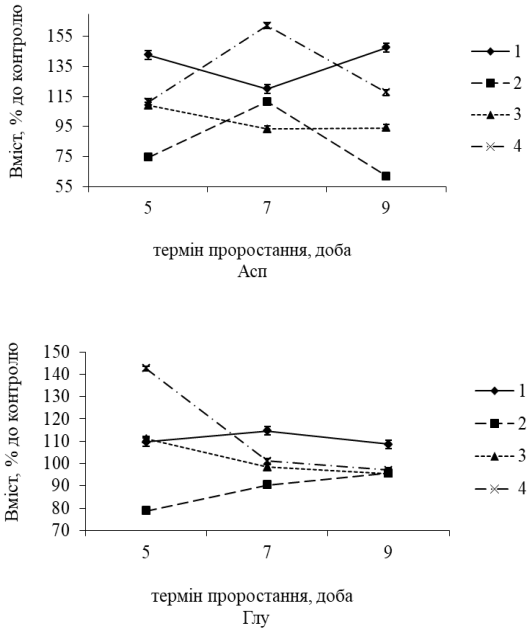


Рис. 1. Динаміка вмісту амінокислот у меристемах кореня кукурудзи за комбінованої дії йонів важких металів: 1 – Pb^{2+} 2 · 10^{-3} моль/л; 2 – Cd^{2+} 2 · 10^{-4} моль/л; 3 – Ni^{2+} 1 · 10^{-4} моль/л; 4 – Pb^{2+}+ Cd^{2+}+ Ni^{2+}

Зміни вмісту цистеїну (рис. 3) практично для всіх досліджених варіантів (за винятком іонів нікелю) були практично однаковими: суттєвий підйом на 5-ту добу впливу, потім на 7-му – різке падіння, аж до слідових кількостей, а на 9-ту – знову підвищення. Відмінності полягали в рівні цих підвищень: за сумісної дії значення були нижчими порівняно з окремою дією. Сумісна дія важких металів викликала підвищення вмісту метіоніну на 5-ту та 7-му доби впливу (на 17 та 32 % відповідно), далі

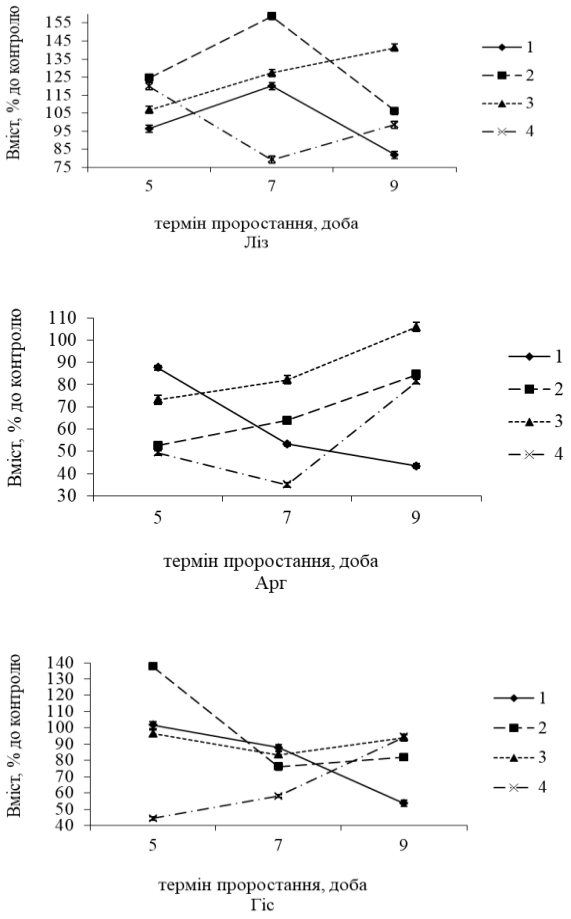


Рис. 2. Динаміка вмісту амінокислот у меристемах кореня кукурудзи за комбінованої дії йонів важких металів: 1 – Pb^{2+} 2 · 10^{-3} моль/л; 2 – Cd^{2+} 2 · 10^{-4} моль/л; 3 – Ni^{2+} 1 · 10^{-4} моль/л; 4 – Pb^{2+}+ Cd^{2+}+ Ni^{2+}

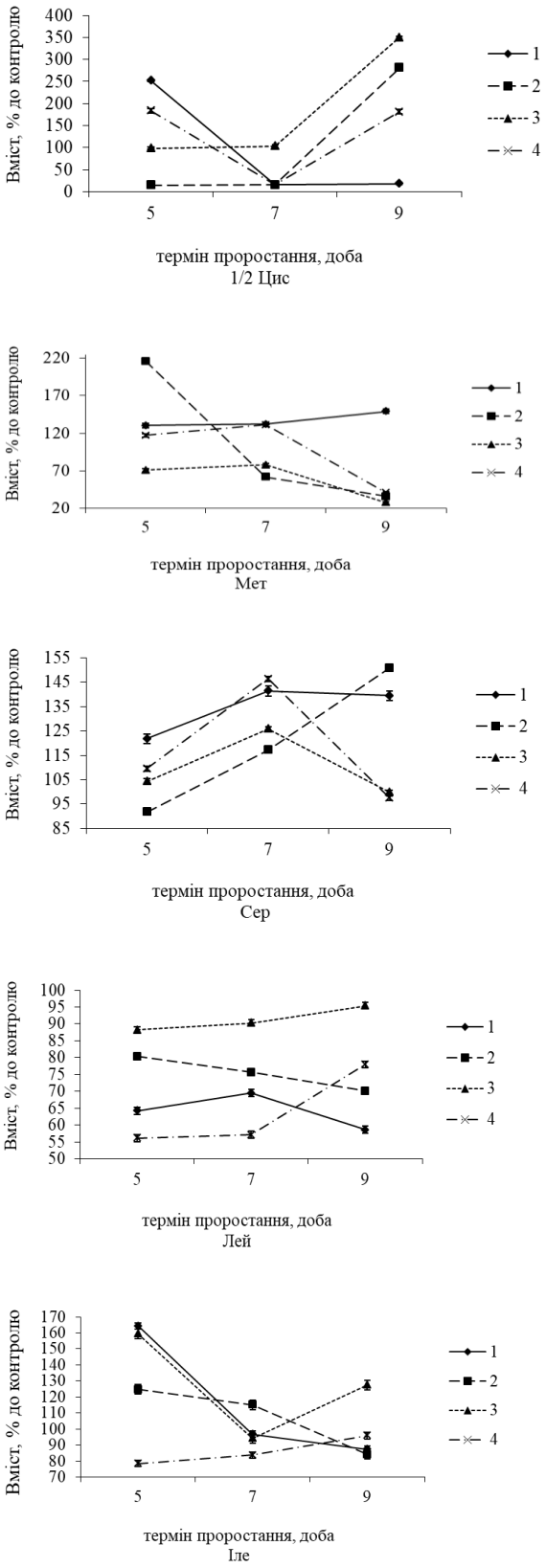


Рис. 3. Динаміка вмісту амінокислот у меристемах кореня кукурудзи за комбінованої дії йонів важких металів: 1 – Pb^{2+} 2 · 10^{-3} моль/л; 2 – Cd^{2+} 2 · 10^{-4} моль/л; 3 – Ni^{2+} 1 · 10^{-4} моль/л; 4 – Pb^{2+}+ Cd^{2+}+ Ni^{2+}

різке зменшення (на 59 %). Порівняно з окремою дією, на перших двох стадіях спостереження рівень сумісної дії на вміст метіоніну був подібний до дії йонів свинцю, а на останній – до дії йонів кадмію та нікелю (рис. 3).

Вміст серину (рис. 3) за комбінованої дії супроводжувався підвищенням порівняно з контролем на перших двох стадіях відбору (на 10 і 46 % відповідно), а потім його вміст був практично на рівні контролю. Динаміка вмісту серину за сумісного впливу була подібна до змін за дії йонів нікелю.

Як за окремої, так і за сумісної дії відмічалося зниження вмісту лейцину на всіх стадіях проростання. За сумісної дії вміст лейцину гальмувався найбільшою мірою на перших двох стадіях порівняно з окремою, а на 9-ту добу підвищувався і був найближчим до рівня варіанта з кадмієм (рис. 3). Вміст ізолейцину за сумісної дії був знижений порівняно з контролем протягом всього досліду, у той час як за окремої дії крива зміни вмісту цієї амінокислоти була складнішою (рис. 3).

Крива зміни вмісту аланіну за сумісної дії не була подібною до жодного з досліджуваних варіантів окремого впливу важких металів. На перших двох стадіях спостереження подібно до варіантів зі свинцем та нікелем вміст аланіну був знижений, а на 9-ту добу підвищувався подібно до дії йонів кадмію (рис. 4). Вміст треоніну за сумісної дії на 5-ту й 7-му доби був підвищеним на 10 %, а потім знижувався на 15 % порівняно з контролем. Максимальний вміст гліцину за сумісної дії припадав на 7-му добу, а найменший – на 9-ту, в той час як для йонів свинцю – на 5-ту й 9-ту доби, кадмію – на 5-ту й 9-ту доби, а нікелю на 7-му й 9-ту відповідно (рис. 4).

Таким чином, можна констатувати, що найбільший вміст гліцину за комбінованої дії збігався з таким самим за впливу йонів нікелю. Вміст валіну в усіх випадках підвищувався за комбінованої дії важких металів, так само як і за окремої, але крива зміни цього показника відрізнялася більш різким підйомом на другій стадії та падінням на третій.

Відмінність сумісної дії важких металів від роздільної на вміст проліну виявилася в суттєвому підвищенні на першій стадії спостереження (на 47,5 %), у той час як за окремої дії показники були на рівні контролю або нижчими.

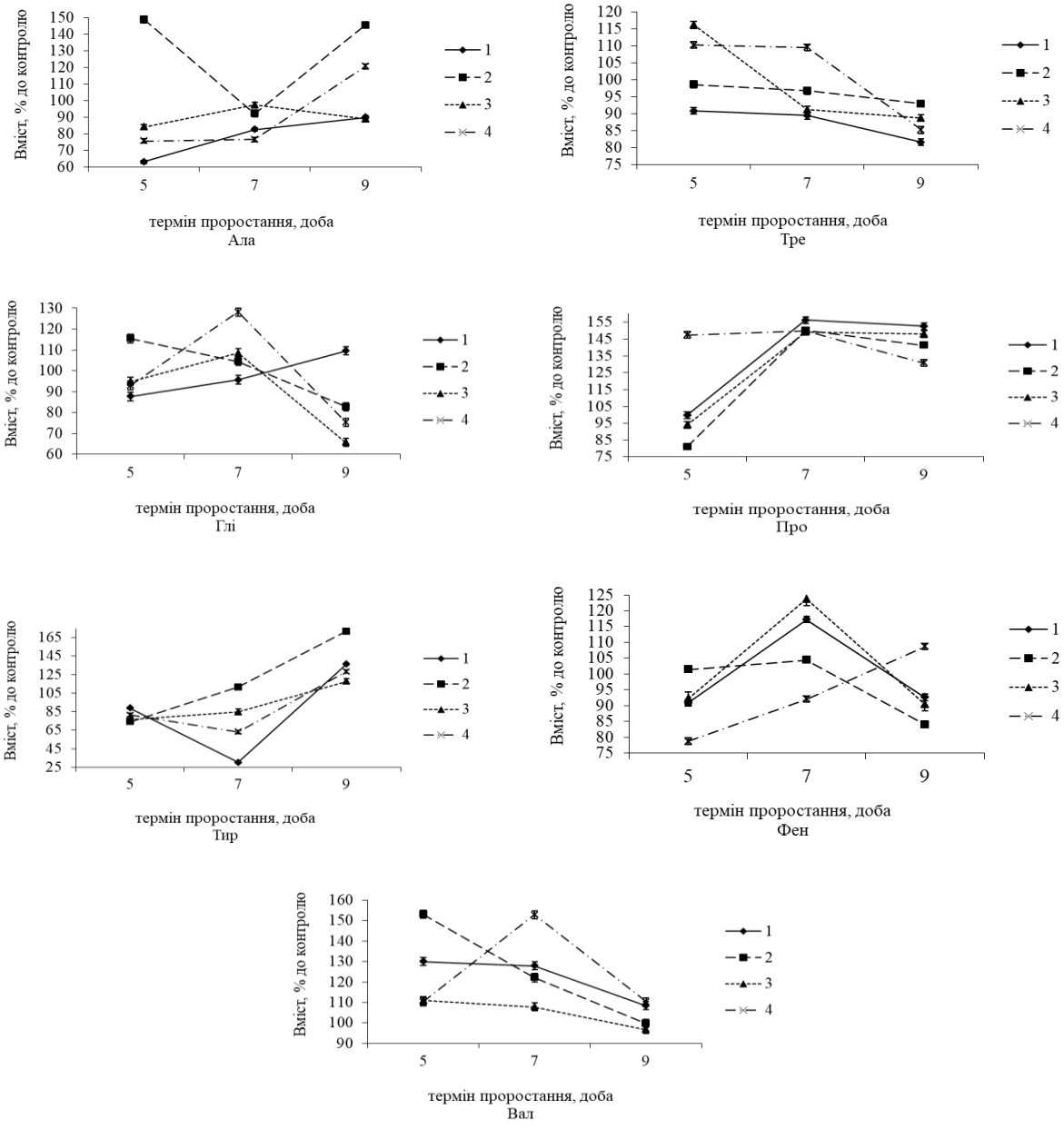


Рис. 4. Динаміка вмісту амінокислот у меристемах кореня кукурудзи за комбінованої дії йонів важких металів: 1 – Pb^{2+} 2 · 10^{-3} моль/л; 2 – Cd^{2+} 2 · 10^{-4} моль/л; 3 – Ni^{2+} 1 · 10^{-4} моль/л; 4 – Pb^{2+}+ Cd^{2+}+ Ni^{2+}

Подібно до індивідуальної дії важких металів вміст тирозину за сумісної дії на 5-ту добу був знижений. Зменшеною кількістю тирозину характеризувалася також 7-ма доба, так само як і для дії йонів свинцю та нікелю (за дії кадмію вміст був дещо підвищений). На 9-ту добу спостереження вміст тирозину підвищувався як за індивідуальної (36, 71, 17 %), так і за сумісної дії (на 28 %) (рис. 4). Комбінований вплив іонів важких металів викликав інгібування вмісту фенілаланіну на 5-ту й 7-му доби спостереження (на 21 і 86 %) та підвищення на 9-ту добу (на 9 %) порівняно з контролем. На відміну від цього, за окремої дії важких металів на 9-ту добу спостерігалося зниження цього показника (на 7, 16 і 10 % відповідно для свинцю, кадмію і нікелю) (рис. 4).

Таким чином, за сумісної дії важких металів характерним було підвищення вмісту аспартату, проліну, валіну, зниження рівня лізину, аргініну, лейцину, ізолейцину на всіх стадіях спостереження; суттєве підвищення вмісту цистеїну (в 1,8 разу), що спостерігалося, як і у випадку окремої дії, на 5-ту й 9-ту доби.

Отже, загальною закономірністю впливу всіх досліджених важких металів, а також їх комбінацій є підвищений вміст проліну, валіну та цистеїну, що можна вважати специфічною реакцією клітин меристеми на вплив ксенобіотиків. У той же час кожен метал характеризувався специфічною дією на підвищене включення певних амінокислот до білкових молекул. Так, за окремої дії йонів свинцю, кадмію й нікелю загальним проявом токсичної дії було підвищення вмісту, крім проліну, валіну, цистеїну та серину, а для кадмію та нікелю – ще й гістидину. За сумісної дії важких металів відзначався додатково підвищений вміст аспартату. Підвищене включення цих амінокислот до гідрофільних білків за умов стресу свідчить про їх важливе значення в пристосувальних процесах клітин твірної 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 для йонів свинцю характерним було також зниження вмісту аланіну й гліцину; іонів кадмію – аргініну; нікелю – аланіну й аргініну, а для сумісної дії важких металів – аргініну, лізину й ізолейцину.

Особливістю впливу йонів кадмію в концентрації $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л було зниження рівня суми високогідрофільних амінокислот (аспартату, глутамату, лізину, аргініну, гістидину) від 4 до 16 % залежно від тривалості дії ксенобіотика та підвищення суми високогідрофобних амінокислот (фенілаланіну, лейцину, ізолейцину, метіоніну, валіну) з 30 до 31 %. За сумісної дії металів вміст високогідрофільних і високогідрофобних амінокислот був близьким або рівним контролю.

Таким чином, метали можуть виступати регуляторами окремих ферментних ланок у системі метаболізму амінокислот через орнітиновий та шикиматний цикли. Протягом періоду проростання якісний амінокислотний склад рослин не змінювався, у той час як кількісний вміст окремих амінокислот сильно варіювався. Різні підвищення вмісту дикарбонових амінокислот (глутамату та аспартату) свідчать про інтенсифікацію метаболічних процесів за дії досліджуваних речовин. Проте не можна виключати, що зростання вмісту глютамінової та аспарагінової кислот пов'язане зі зниженням швидкості їх утилізації. Окрім того, важкі метали викликали збільшення різною мірою вмісту амінокислот орнітинового циклу (аргініну) та кінцевого продукту циклу (проліну). Пролін – амінокислота, яка має стрес-протекторну дію за рахунок зв'язування агрегатів проліну з поверхневими гідрофобними залишками білків, що перешкоджає їх денатурації. Можливо, схожа захисна дія проліну має місце й у випадку, що розглядається.

Висновки

Протягом проростання рослин кукурудзи на розчинах важких металів спостерігалося варіювання у вмісті аланіну, збільшення якого під дією деяких концентрацій, можливо, пояснюється виконанням цією амінокислотою в рослинах захисних функції в умовах стресу. Також за дії йонів важких металів встановлені зміни у вмісті амінокислот шикиматного шляху біосинтезу фенілаланіну та тирозину.

Під час проростання рослин на розчинах важких металів відбувалося збільшення різною мірою вмісту лізину, трионіну, гліцину, серину та валіну. Можливо, накопичення цих амінокислот є наслідком порушення роботи цитратного циклу або біосинтезу глюкози за дії йонів важких металів (за принципом зворотного зв'язку).

Таким чином, проведене дослідження дозволяє зробити висновок про те, що важкі метали суттєво впливають на вміст транспортних амінокислот, амінокислот орнітинового, цитратного та шикиматного біосинтетичного шляху в клітинах меристем коренів кукурудзи.

References

Amosova, N. V., Tazina, I. A., Synzynys, B. I. (2003). Fito- i genotoksicheskoye deystviye ionov zheleza, kobal'ta i nikelya na fiziologicheskiye pokazateli rasteniy razlichnykh vidov [Phyto- and genotoxic effects of ions iron, cobalt and nickel on the physiological parameters of plants of various species]. Agricultural biology, 5, 49–54 (in Russian).

Antonyak, H. L., Mamchur, Z. I., Pershyn, O. I., Bubis, O. Ye., Kordosh, T. V. (2015). Biolohichna dostupnist′ metaliv ta yikh akumulyatsiya v tkanynakh roslyn [Bioavailability of metals and their accumulation in plant tissues]. Herald of problems of biology and medicine, 3, 11–16 (in Ukrainian).

Boguslavska, L., Shupranova, L. (2011). Zminy aminokyslotnoho skladu merystemnykh klityn koreniv kukurudzy za diyi ioniv nikelyu [Changes of amino acid strukture in meristematic cells of maize roots under the action of nickel ions]. Visnyk of the Lviv University. Series Biology, 56, 250–254 (in Ukrainian).

Boguslavska, L. (2012). Aminokyslotnyy sklad bilkiv merystemnykh klityn koreniv kukurudzy za diyi ioniv svyntsyu [Amino acid strukture of proteins in meristematic cells of maize roots under the influence of lead ions]. Visnyk of the Lviv University. Series Biology, 56, 250–254 (in Ukrainian).

El-Shintinawy, F., El-Ansary, A. (2000). Differential effect of Cd^{2+} and Ni^{2+} on amino acid metabolism in soybean seedlings. Biol. Plant, 43, 1, 79–84.

Hall, J. L., Williams, L. E. (2003). Transition metal transporters in plants, 54, 393, 26101–26113.

Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. British Medical Bulletin, 68, 1, 167–182.

Kabata-Pendias, A. (2000). Trace Elements in Soils and Plants. 3rd edn. CRC Press, 432.

Kosakovskaya, I. V. (2008). Stressovyye belki rasteniy [Plant stress proteins]. Kyiv, UFTS (in Ukrainian).

Kramer, U. (1997). The Role of Metal Transport and Tolerance in Nickel Hyperaccumulation by Thlaspi goesingense Halacsy.Plant Physiol, 115, 641–1650.

Kuznetsov, V. V. (2006). Fiziologiya rasteniy [Plant Physiology]. Moscow, Higher school (in Russian).

Seregin, I. V. (2001). Fiziologicheskiye aspekty toksicheskogo deystviya kadmiya i svintsa na vysshiye rasteniya [Physiological aspects of the toxic effect of cadmium and lead on higher plants]. Plant Physiology, 48, 4, 606–630 (in Russian).

Seregin, I. V. (2003). Toksicheskoye deystviye i raspredeleniye nikelya v kornyakh kukuruzy [Toxic effect and distribution of nickel in corn roots]. Physiology of plants, 50, 5, 793–800 (in Russian).

Seregin, I. V., Kozhevnikova, A. D. (2006) Fiziologicheskaya rol' nikelya i yego toksicheskoye deystviye na vysshiye rasteniya [Physiological role of nickel and its toxic effect on higher plants]. Plant Physiology, 53, 2, 285–308 (in Russian).

Topchiy, N. M. (2010). Vplyv vazhkyh metaliv na fotosyntez [Influence of heavy metals on photosynthesis]. Physiology and biochemistry cult plants, 42, 2, 95–106 (in Ukrainian).