УДК 581.1
DOI https://doi.org/10.32846/2306-9716/2023.eco.1-46.22

БІЛКОВА СИСТЕМА ТВІРНИХ ТКАНИН КОРЕНІВ КУКУРУДЗИ (*ZEA MAYS* L.) ЗА ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Богуславська Л.В.
Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара,
пр. Гагаріна, 72, 49010, м. Дніпро
milbogus@gmail.com

Сполуки металів, які надходять у навколишнє середовище з техногенними емісіями, стають більш небезпечними для екосистем у порівнянні з їх природними сполуками завдяки більшій розчинності. Проблема фітотоксичного ефекту дії кадмію, свинцю та нікелю на кореневу систему рослин інтенсивно досліджується вченими, оскільки не менше половини всієї кількості важких металів надходить у ґрунт, але практично відкритим залишається питання про наявність специфічних ефектів впливу різних металів як окремо, так і разом та можливості їх прояву на рівні клітинної організації ділянок кореня. Одним з найбільш чктливих показникв метаболізму рослин є білковий обмін. Показники вмісту білка швидко змінюються за умов впливу забруднювачив різної природи. Проаналізовано реакцію білкової системи зони поділу коренів кукурудзи за окремої та сумісної дії іонів важких металів. Проростання проростків кукурудзи у розчинах нітратів свинцю, кадмію та нікелю супроводжувалося змінами у вмісті альбумінів кореневої меристеми: їх кількість знижувалася протягом проростання (в контролі також відбувалося гальмування накопичення білка, але меншою мірою, ніж у дослідних варіантах). Визначено, що за дії іонів кадмію протягом всього періоду проростання токсична дія важкого металу зменшувалася за показником вмісту водорозчинних білків клітин апікальної меристеми кореня. Знижувалася також інгібуюча дія іонів нікелю, але на 9-ту добу вона ще була значною. Токсична дія свинцю з часом підсилювалася. За спільної дії на останній стадії розвитку проростків встановлено стимулювання процесу синтезу водорозчинних білків, що свідчить про антагоністичний характер взаємодії трьох важких металів у вивчених концентраціях. Коливання інтенсивності синтезу білків корелює зі змінами поліпептидного складу, що проявляється у підсиленні поліпептидів родин БТШ 60 і 90 кД, перебудовах в області низькомолекулярних компонентів, а також зникненні компонентів з високою молекулярною масою 121 і 148 кД. Виявлено білки, поява яких була стабільною протягом всього терміну проростання рослин кукурудзи. *Ключові слова:* кукурудза, кореневі меристеми, важки метали, поліпептиди.

Protein system of formal tissue of maize roots (*Zea mays* L.) under the action of heavy metal ions. Bohuslavska L.

Metal compounds that enter the environment with man-made emissions become more dangerous for ecosystems compared to their natural compounds due to greater solubility. The problem of the phytotoxic effect of cadmium, lead, and nickel on the root system of plants is intensively studied by scientists, since at least half of the total amount of heavy metals enters the soil, but the question of the presence of specific effects of exposure to various metals, both individually and together, and the possibility of their manifestation at the level of cellular organization of root areas. One of the most accurate indicators of plant metabolism is protein metabolism. Indicators of protein content change rapidly under conditions of exposure to pollutants of various nature. The reaction of the protein system of the division zone of maize roots under the separate and combined action of heavy metal ions was analyzed. Germination of maize seedlings in solutions of nitrates of lead, cadmium and nickel was accompanied by changes in the content of albumins in the root meristem: their number decreased during germination (the inhibition of protein accumulation also occurred in the control, but to a lesser extent than in the experimental variants). It was determined that under the action of cadmium ions during the entire period of germination, the toxic effect of the heavy metal decreased according to the indicator of the content of water-soluble proteins in the cells of the apical meristem of the root. The inhibitory effect of nickel ions also decreased, but on the 9th day it was still significant. The toxic effect of lead increased over time. Under joint action at the last stage of seedling development, stimulation of the synthesis of water-soluble proteins was established, which indicates the antagonistic nature of the interaction of the three heavy metals in the studied concentrations.

Fluctuations in the intensity of protein synthesis are correlated with changes in the polypeptide composition, which is manifested in the amplification of polypeptides of the BTSH families of 60 and 90 kD, rearrangements in the area of low molecular weight components, as well as the disappearance of components with a high molecular weight of 121 and 148 kD. Proteins were identified, the appearance of which was stable during the entire germination period of maize plants. *Key words:* corn, root meristems, heavy metals, polypeptides.

Постановка проблеми та актуальність дослідження. Серед сучасних проблем особливо важливою є дослідження реакції рослин на токсичну дію хімічних сполук. На сьогодні існує значна кількість досліджень з проблем адаптації рослин до впливу важких металів, у яких висвітлюють структурні та метаболічні зміни, що відбуваються у рослинах природних і штучних біотопів [1–3], але з'ясування механізмів їх комплексної дії на різних рівнях організації рослинного організму потребує подальшого глибокого вивчення. Кінцевий результат відповіді біологічних клітин на комбіновану дію неможливо

передбачити, виходячи із інформації тільки про ефект роздільної дії кожного з факторів. У зв'язку з цим проблема оцінки комплексного впливу на біоту реально існуючих рівнів антропогенного забруднення в сучасній біосфері вважається однією з найбільш актуальних. На цей час основна кількість досліджень присвячена вивченню роздільної дії окремих полютантів на анатомічні, морфофізіологічні показники, хромосомний апарат клітин, систему антиоксидантного захисту деяких сільськогосподарських рослин [4–5], а відомості про одночасну дію двох і більше стрес-факторів на одну чи декілька фізіолого-біохімічних систем культурних рослин на ранніх етапах онтогенезу вкрай обмежені [5–7]. Тому необхідно визначити закономірності змін деяких фізіолого-біохімічних показників рослин в умовах фітотоксичного ефекту, який індуковано комплексною дією важких металів. Проблема фітотоксичного ефекту дії кадмію, свинцю та нікелю на кореневу систему рослин останнім часом інтенсивно досліджується вченими [8–10], оскільки не менше половини всієї кількості важких металів надходить у ґрунт, але практично відкритим залишається питання про наявність специфічних ефектів впливу різних металів як окремо, так і разом та можливості їх прояву на рівні клітинної організації ділянок кореня. Таким чином, дослідження специфіки синтезу білків у зв'язку з функціональною активністю меристем в умовах дії важких металів, а особливо їх комбінації, є актуальним та науково обґрунтованим для виявлення маркерних ознак стресових механізмів стійкості рослин у техногенно забрудненому середовищі. У зв'язку з цим метою нашої роботи було дослідити комбінований вплив іонів свинцю, кадмію та нікелю на поліпептидний склад водорозчинних білків кореневої меристеми проростків кукурудзи в онтогенезі.

Матеріали та методи дослідження. 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°C ± 2°C) протягом двох діб у проточній воді до появи коренів. Після цього проростки пересаджували на досліджувані середовища з іонами нітратів свинцю (Pb(NO3)2), кадмію (Cd(NO3)2 · 4 H2O) та нікелю (Ni NO3)2 · 6H2O). Досліджувані концентрації металів підбирали шляхом їх 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. 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. Визначення вмісту білка проводили за методом Бредфорд [11]. Поліпептидний склад фракцій водорозчинних білків клітин меристеми кореня вивчали за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі з градієнтом 10 – 20%, за наявності 0,1% додецилсульфату натрію у системі Лемлі [12]. Перед нанесенням зразки витримували протягом 5 хв за температури 100°C, та наносили по 80 мкл під буфер на гелієву пластинку. Електрофорез проводили за температури + 20°C. Сила струму становила 40 мА протягом перших 1,5 год, а потім 60 мА протягом 2,5 год. Гелі забарвлювали кумасі діамантовим блакитним R250 в суміші етанол – вода – оцтова кислота у співвідношенні 10 : 5 : 1. Маркерами слугували такі білки: альбумін яєчний (Mr 45 000), рибонуклеаза (Mr 14 000), бичиї сироватковий альбумін (Mr 67 000). Денситометрію проводили за допомогою програми Електрофор-менеджер, 2004 р.

Виклад основного матеріалу. Загальним принципом відповіді клітини на стрес є синтез специфічних стресових білків, які допомагають клітині пережити екстримальні умови [13; 14]. У рослин виявлена велика кількість білків, синтез яких індукується важкими металами. Так, у Zea mays L. 18% іонів кадмію зв'язується з білками, подібними до металтеонеїнів з молекулярною масою (Mr) 11–35 кД [13]. Встановлено, що у кукурудзи субтоксичні концентрації кадмію (20 мкМ) та цинку (0,1 М) індукують синтез білків з Mr 18, 23, 33, 76, 84 і 89 кД [14]. Виявлено також білки, які синтезуються у відповідь на дію Cu, Mo, W, Hg [15]. Вважають, що їх захисна дія полягає у зв'язуванні іонів важких металів [15]. Даних з вивчення ролі стресових білків у розвитку толерантності рослинних організмів до сумісної дії іонів важких металів недостатньо.

Проростання проростків кукурудзи у розчинах нітратів свинцю, кадмію та нікелю супроводжувалося змінами у вмісті альбумінів кореневої меристеми: їх кількість знижувалася протягом проростання (табл. 1). Слід зазначити, що протягом проростання в контролі також відбувалося гальмування накопичення білка, але меншою мірою, ніж у дослідних варіантах.

За окремої дії іонів важких металів показник вмісту водорозчинних білків на 5-ту добу зменшувався порівняно з контролем для плюмбуму на 28,8%, для кадмію – на 29,7%, для ніколу – на 35,9%. На 7-му добу проростання спостерігалася схожа тенденція: зниження показника вмісту білків на 26,5% для іонів свинцю на – 20,4% для кадмію та для нікелю – на 46,9%. Для 9-ої доби проростання було характерним суттєве зниження вмісту водорозчинних білків на 39,5% для іонів свинцю та на 47,4% для іонів нікелю. За дії іонів кадмію суттєвих змін у вмісті білка порівняно з контролем не вияв-

лено. За комбінованої дії іонів свинцю, кадмію та нікелю спостерігалася інша тенденція: на 5-ту й 7-му доби зменшувався вміст водорозчинних білків на 38,4% і 9,8%, а на 9-ту добу спостерігалося підвищення вмісту білка на 17% порівняно з контролем. Таким чином, відповідь рослини на стрес полягала в зменшені інтенсивності експресії синтезу білка. Фізіологічне значення гальмування синтезу білка полягало в тому, що на стадії трансляції, крім збереження самого білоксинтезуючого апарату, може зменшуватись енергетичне навантаження на клітину, відбуватися гальмування ймовірності метаболічного самоушкодження клітин. Одночасно зі зниженням вмісту водорозчинних білків спостерігалися й активні перебудови в їх компонентному складі. У результаті досліджень поліпептидного складу водорозчинних білків на 5-ту добу проростання в кореневій меристемі контрольних зразків зареєстровано 37 компонентів, на 7-му добу – 36, на 9-ту добу – 40. Їх значення M_r знаходились у діапазоні від 10,3 до 148 кД. Зміни в поліпептидному складі водорозчинних білків апікальної меристеми кореня кукурудзи за дії іонів свинцю ($2 \cdot 10^{-3}$ моль/л) показані в таблиці 2.

Як показав порівняльний аналіз, за дії іонів свинцю характерними були множинні зміни по всьому електрофоретичному спектру водорозчинних білків, які спостерігалися протягом всього періоду проростання. Якщо для 5-ї та 7-ї діб відмічалася поява нових поліпептидів із родин БТШ 60 і 100 кД, то для 9-ї доби характерною була індукція поліпептидів із родин БТШ 16–40 кД (13,2, 14,5, 16,3, 40,8, 50,2) на додаток до поліпептидів із родин БТШ 60 і 100 кД. На 5-ту і 7-му доби проростання стабільно експресувався поліпептид із M_r 115 кД. Для значної кількості білкових компонентів відмічалося зни-

Таблиця 1

Вміст водорозчинних білків у кореневій меристемі рослин кукурудзи за комбінованої дії іонів важких металів

Концентрації важких металів, моль/л	5-та доба		7-ма доба		9-та доба	
	Вміст білка, мг/г	Інгібуюча дія,%	Вміст білка, мг/г	Інгібуюча дія,%	Вміст білка, мг/г	Відношення до контролю, %
Контроль	11,7±	–	10,3±	–	7,5±	–
Pb^{2+}2 Ч	7,3±	28,8	6,1±	26,5	4,5±	60,9
Cd^{2+}2 Ч	8,2±	29,7	7,9±	20,4	7,2±	98,5
Ni^{2+}1 Ч	7,5±	35,9	5,5±	46,9	3,9±	72
Pb^{2+}+Cd^{2+}+Ni^{2+}	7,2±	38,4	9,3±	9,8	8,7±	117

Таблиця 2

Зміни у поліпептидному складі водорозчинних білків апікальної меристеми кореня кукурудзи за дії іонів свинцю ($2 \cdot 10^{-3}$моль/л)

Термін проростання	Поява поліпептидів, кД	Зникнення поліпептидів, кД	Підвищення вмісту білка в зоні, кД	Зниження вмісту білка в зоні, кД
5 доба	57,6; 66,2; 115,0	28,2; 45,8; 50,2; 52,5; 74,2; 108,0	60,3; 63,1; 64,6; 79,5; 81,3; 85,2; 97,8	30,2; 30,9; 33,9; 36,4; 37,2; 41,7; 42,7; 46,5; 53,7; 70,8; 95,5
7 доба	53,7; 83,2; 115,0	70,8; 79,5; 108,0	19,5; 26,3; 56,3; 64,6	17,8; 20,5; 28,2; 30,9; 52,5; 55,0; 67,7; 87,1
9 доба	13,2; 14,5; 16,3; 40,8; 50,2; 57,6; 69,2; 72,5; 102,0	21,9; 23,5; 24,6; 63,1	56,3	42,7; 49,0; 53,7; 126,0

Таблиця 3

Зміни у поліпептидному складі водорозчинних білків апікальної меристеми кореня кукурудзи за дії іонів кадмію ($2 \cdot 10^{-4}$моль/л)

Термін проростання	Поява поліпептидів, кД	Зникнення поліпептидів, кД	Підвищення вмісту білка в зоні, кД	Зниження вмісту білка в зоні, кД
5 доба	52,5; 89,2; 91,2	37,2	34,7; 36,5; 47,9; 55,0; 57,6; 60,3; 72,5	19,4; 39,0; 97,8
7 доба	69,2; 79,5; 81,3; 91,2	28,2; 52,5; 60,3; 72,5; 85,3; 118,0; 121,0	47,9	19,5; 20,9; 22,4; 23,5; 36,5; 39,0; 42,7; 44,7; 57,6; 63,1; 64,6; 66,1; 74,2; 77,7; 95,5
9 доба	21,5; 70,8; 83,2; 87,1; 91,2	19,5; 24,4	34,7; 47,9; 72,5	23,5; 39,0; 126,0

ження їх вмісту, особливо для 5-ї та 7-ї діб проростання кукурудзи.

Іони кадмію також викликали зміни в компонентному складі білків протягом всього періоду проростання (табл. 3).

Для кожної стадії розвитку (5-та, 7-ма й 9-та доби) характерним був свій пул білків. De novo індукувалися поліпептиди, в основному з високою молекулярною масою. Для 5-ї доби характерним було підвищення вмісту білка в електрофоретичних зонах та поява нових білків, а для 7-ї доби – зникнення або зниження накопичення білків з визначеними значеннями M_r. Для всіх періодів проростання відмічена поява нового поліпептиду з M_r 91,2 кД, зникнення компонента з M_r 32.0 кД, підвищення накопичення білка з M_r 47,9 кД.

Дослідження впливу іонів нікелю на індукцію синтезу білків (табл. 4) показало, що на 5-ту добу проростання в складі фракції водорозчинних білків з'являються 6 поліпептидів, які були характерними для всіх дослідних варіантів: 10,2; 11,4; 15,5; 18,7; 36,4; 51,4 кД. Вони не зареєстровані в контролі.

На 7-му добу залежно від концентрації металу виявлено від 2 до 5 нових компонентів, причому для всіх варіантів досліду характерними були поліпептиди з Mr 28,2 і 30,9 кД. Для зразків, вирощених із додаванням іонів нікелю в концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, відмічалася поява високомолекулярних компонентів 93,4 і 97,8 кД. Найвище накопичення білка спостерігалося в зоні з M_r 97,8 кД. На 9-ту добу для всіх варіантів досліду характерною була поява поліпептида з Mr 10,1 кД. Під час дії іонів нікелю відмічалося зникнення ряду поліпептидів, що є загальною рисою для 5-ї доби.

Зміни в поліпептидному складі водорозчинних білків апікальної меристеми кореня кукурудзи за комбінованої дії важких металів представлені в таблицях 5–8.

За комбінованого впливу іонів важких металів на склад водорозчинних білків на 5-ту добу виявлено відсутність поліпептиду з M_r 148 кД, синтез якого на 7-му добу знов активувався, а на 9-ту добу – загальмувався.

На 5-ту добу проростання спостерігалося зниження/підсилення експресії білків із середньою молекулярною масою. Відбувалося підсилення синтезу поліпептидів сімейств БТШ 60 і 90 кД. На 7-му добу виявлено зниження накопичення поліпептиду з високою молекулярною масою 121 кД. Поліпептидний склад 9-ї доби за сумісної дії важких металів характеризувався загальним зниженням рівня накопичення білка по всьому спектру водорозчинних білків (від низько- до високомолекулярних компонентів білків), та відсутністю двох поліпептидів з низьким значенням M_r (10,3; 11,0 кД) і одного з M_r 148 кД.

Встановлено, що за наявності хімічного стресу підсилюється експресія білкових компонентів із низькими та середніми значеннями M_r (5-та та

Таблиця 4

Зміни у поліпептидному складі водорозчинних білків апікальної меристеми кореня кукурудзи за дії іонів нікелю ($1 \cdot 10^{-4}$ моль/л)

Термін проростання	Поява поліпептидів, кД	Зникнення поліпептидів, кД	Підвищення вмісту білка в зоні, кД	Зниження вмісту білка в зоні, кД
48 год	10,2; 11,4; 15,5; 18,7; 36,4; 51,4	14,8; 15,2; 19,5; 20,5; 44,7; 47,8; 55,0; 64,6	10.0; 10,2; 13,2; 15,5; 16,6; 23,5; 30,9; 33,3; 43.7; 47,9; 51,4; 129,0; 142,0	11,0; 11,4; 12,1; 16,3; 17,4; 18,2; 21,9; 25,2; 37,2; 42,7; 58,9
96 год	28,2; 30,9; 30,9; 42,7	46,8	14,8; 18,2; 18,7; 27,6; 28,2; 36,4; 51,4; 129,0	37,2; 39,0; 42,7; 43,6; 43,7; 52,5; 142,0; 148,0
144 год	10,1	–	11,0; 11,3; 12,9; 14,8; 15,2; 16,3; 16,6; 17,8; 18,2; 19,1; 25,2; 30,9; 33,2; 42,7; 43,7; 129,0; 142,0	28,2; 37,2; 38,1; 52,5

Таблиця 5

Зміни у поліпептидному складі водорозчинних білків апікальної меристеми кореня кукурудзи за сумісної дій іонів важких металів

Термін проростання	Поява поліпептидів, кД	Зникнення поліпептидів, кД	Підвищення вмісту білку у зоні, кД	Зниження вмісту білку у зоні, кД
5 доба	–	148.0	52,5; 67,7; 74,3	27,6; 56,3; 58,9; 63,1; 79,5; 124,0
7 доба	148,0	–	–	121,0
9 доба	–	10,3; 11,0; 148,0	50,2; 55,0; 63,1; 70,8; 79,6; 87,1	12,4; 13,5; 15,2; 18,3; 20,0; 21,4; 23,0; 24,0; 25,8; 26,3; 39,9; 44,7; 57,6; 61,7; 66,1; 69,2; 74.2; 81,4; 97,8; 113,0; 121,0; 126,0; 129,0

7-ма доби) і низьких, середніх та високомолекулярних поліпептидів (9-та доба). Слід відзначити, що іони нікелю викликають експресію білків, які були характерні для контрольних зразків на інших стадіях розвитку проростків кукурудзи. Так, поліпептиди з молекулярною масою 10,2; 11,4; 36,4 кД з'являються в результаті дії іонів нікелю на 5-ту добу проростання. У той же час ці білки зареєстровані в контролі на 7-му добу, а в дослідних зразках інтенсивність їх накопичення зростає. Таким чином, кожний етап розвитку проростків кукурудзи супроводжувався як якісними, так і кількісними перебудовами фракції водорозчинних білків меристеми кореня в результаті токсичної дії іонів нікелю. Для іонів нікелю характерними були зміни в області низькомолекулярних білків, причому це стосується як індукції, так і гальмування процесу синтезу білків. Основні зміни у спектрі функціональних білків спостерігалися на 5-ту добу проростання. Відмічалася поява 6 нових поліпептидів, зникнення 8 компонентів та значне зниження накопичення білка 11 компонентів. У той же час у значної кількості компонентів (13) спостерігалося підвищення рівня їх експресії.

На 7-му добу проростання кукурудзи основні зміни у спектрі водорозчинних білків стосувалися рівня накопичення білків в електрофоретичних зонах (підвищення/зниження). Відмічалась індукція поліпептидів тільки з сімейства БТШ 16 – 40 кД. Для 9-ї доби основні зміни відбувалися в області гальмування процесу синтезу білка (вміст білка у 17 компонентів був знижений). Крім того, відмічалась поява одного поліпептиду з M_r 10,1 кД та підвищення вмісту білка в чотирьох компонентах із середньою молекулярною масою.

Таблиця 6

Вміст водорозчинних білків апікальної меристеми кореня кукурудзи за сумісної дії іонів важких металів на 5-ту добу проростання

M_r, кД	Контроль	Pb^{2+}+ Cd^{2+}+ Ni^{2+}
168,0	0,79	–
155,0	0,70	0,98
139,0	0,57	–
132,0	1,11	–
108,0	8,85	12,57
105,0	1,69	0,03
87,1	1,15	0,33
81,3	–	3,66
74,2	14,48	14,76
69,2	3,16	–
64,6	2,60	–
63,1	5,01	1,88
58,9	1,47	0,33
56,3	5,93	3,70
46,8	7,31	12,19
40,8	5,64	7,89
36,4	3,34	–
33,9	8,02	19,56
29,6	0,08	–
28,2	–	0,85
27,6	0,27	–
25,3	5,70	4,60
22,4	0,95	0,97
20,0	1,25	2,67
14,2	1,22	0,51
12,9	–	0,83
12,4	7,80	0,80
11,3	3,06	1,84
10,9	–	5,99
10,2	2,68	–
10,1	5,16	3,05

Таблиця 7

Вміст водорозчинних білків апікальної меристеми кореня кукурудзи за сумісної дії іонів важких металів на 7-му добу проростання

M_r, кД	Контроль	Pb^{2+}+ Cd^{2+}+ Ni^{2+}
168,0	0,01	0,65
155,0	0,11	0,44
139,0	0,35	1,40
124,0	0,12	0,39
108,0	0,45	–
89,2	8,18	6,14
81,3	5,23	5,15
70,8	1,25	0,96
69,2	–	0,46
67,7	1,77	–
63,1	2,87	0,98
56,3	–	3,10
53,7	5,03	–
52,5	12,07	10,33
46,8	7,56	6,42
41,7	1,40	2,11
39,9	0,16	0,63
39,0	–	0,01
37,2	1,40	2,09
36,4	1,96	0,38
33,9	0,88	–
30,2	10,76	14,11
27,6	1,53	–
25,3	8,48	14,63
22,4	0,03	0,98
20,0	3,71	1,00
19,5	1,94	–
16,6	3,63	–
15,5	9,94	12,54
14,8	6,25	6,59
14,2	1,39	2,96
11,3	1,02	–
10,9	0,65	0,51
10,2	0,33	0,64
10,1	0,51	0,16

Таблиця 8

Вміст водорозчинних білків апікальної меристеми кореня кукурудзи за сумісної дії іонів важких металів на 9-ту добу проростання

M_r, кД	Контроль	Pb^{2+}+ Cd^{2+}+ Ni^{2+}
168,0	2,12	2,19
155,0	0,22	–
124,0	0,57	0,49
108,0	4,03	4,42
105,0	4,52	5,91
91,2	4,18	2,28
83,2	0,87	0,32
74,2	1,37	1,49
69,2	11,86	9,82
64,6	–	1,07
61,7	0,84	0,95
56,3	0,08	0,51
53,7	–	0,04
49,0	5,06	5,75
46,8	1,59	0,95
40,8	12,36	14,56
36,4	9,93	11,02
31,7	0,17	10,38
29,6	4,92	3,08
25,3	3,33	0,99
22,4	3,43	0,18
21,4	6,74	3,83
19,5	3,44	3,08
17,8	0,98	0,52
16,6	0,55	–
15,2	0,55	0,35
13,9	0,97	0,96
12,4	–	0,55
11,3	11,29	3,63
10,9	–	1,16
10,2	–	–
10,1	4,04	9,55

Таким чином, отримані результати показали, що за дії іонів кадмію протягом всього періоду проростання токсична дія важкого металу зменшувалася за показником вмісту водорозчинних білків клітин апікальної меристеми кореня. Знижувалася також інгібуюча дія іонів нікелю, але на 9-ту добу вона ще була значною. Токсична дія свинцю з часом підсилювалася. За спільної дії на останній стадії розвитку проростків встановлено стимулювання процесу синтезу водорозчинних білків, що свідчить про антагоністичний характер взаємодії трьох важких металів у вивчених концентраціях. Зміни загального їх вмісту супроводжувалися активними перебудовами компонентного складу. Якщо за дії кадмію протягом усього періоду проростання та за дії свинцю на 5-ту та 7-му доби характерними були зміни в компонентному складі білків із високомолекулярної області значень M_r, то за дії нікелю на всіх стадіях проростання та для свинцю на 9-ту добу спостерігалася індукція білків із родини БТШ 16–40 кД, найбільш динамічної системи яка, можливо, забезпечує виконання процесів, пов'язаних із детоксикацією фітотоксикантів. Комбінований вплив важких металів на поліпептидний склад водорозчинних білків суттєво відрізнявся від їх окремої дії. Так, загальним проявом спільного впливу іонів свинцю, кадмію та нікелю були зміни в накопиченні білків: відмічалось інгібування синтезу білків по всьому електрофоретичному спектру водорозчинних білків кореневої меристеми, причому цей процес підсилювався протягом проростання. Синтез de novo поліпептиду з M_r 148 кД був помітний тільки на 7-му добу проростання. Зареєстрована також значна активація накопичення поліпептидів із високою молекулярною масою.

Висновки. Білкова система зони твірних тканин кореня виявилася доволі чутливою до дії іонів важких металів. Інкубація рослин кукурудзи на середовищі з іонами важких металів знижує інтенсивність синтезу водорозчинних білків клітин меристеми кореня на ранніх етапах онтогенезу на 38 і 10% відповідно до терміну проростання (5-та та 7-ма доба), а на більш пізніх (9-та доба) – підвищення на 17% порівняно з контролем. За дії важких металів, як окремо, так і сумісно, крім зменшення/підвищення наявної кількості білків відбувається активація/гальмування накопичення ряду нових білків. Незважаючи на далеко не повне з'ясування функції стресових білків та білків адаптації, виявлено значний ряд захисних функцій, серед яких гальмування активного метаболізму клітин, захист біомакромолекул та структур від пошкоджень, заміна нестабільних білків, участь у процесах репарації.

Література

1. Щербаченко О.І. Важкі металт як токсичний фактор забруднення природного сережовища. Стійкість і адаптація рослин до їх впливу. *Наукові записки державного природознавчого музею.* 2014. Вип. 30. С. 157–182.
2. Алексеев Ю.А. Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л. : Агропромиздат. Ленигр. отд-ние, 1987. 142 с.
3. Вакерич, М. М., Ніколайчук, В. І. До вивчення шляхів зниження фітотоксичної дії важких металів на розвиток рослин. *Науковий вісник Ужгородського національного університету: Біологія*. 2009. Вип. 25. С. 59–61.
4. Довгалюк А. І., Каліняк Т. Б., Блюм Я. Б. Оценка фито- и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука. *Цитология и генетика*. 2001, № 1. С. 3–9.
5. Евсеева Т. И., Майстренко Т. А., Гераськин С. А., Белых Е. С. Влияние Cd и K на уровень цитогенетических эффектов, индуцируемых ^{232}Th в корневой меристеме *Allium cepa* L. *Цитология и генетика*. 2006. № 6. С. 50–58.
6. Воробець Н. М., Микієвич І. М. Сумісна дія свинцю та селену на проростання та ріст соняшника. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна.* 2000. Вип. 26. С. 159–165.

7. Колупаєв Ю.Є. Стресові реакції рослин (молекулярно-клітинний рівень). Харків : ХДУ, 2001. 173 с.
8. Гришко В. М., Демура Т. А. Інтенсивність акумуляції кадмію і нікелю та рівень їх фітотоксичності за сумісної дії на проростки. *Доп. НАН України*. 2008. № 5. С. 161–167.
9. Jama-Rodzeńska A., Nowak W. Nickel and lead uptake by willows (*Salix viminalis* L.). *Polish J. Agronomy*. 2012. N 11. P. 29–33.
10. Mleczek M., Łukaszewski M., Kaczmarek Z. et al. Efficiency of selected heavy metals accumulation by *Salix viminalis* roots. *Environ. Exp. Bot*. 2009. Vol. 65. N 1. P. 48–53.
11. Fernández S., Poschenrieder C., Marcenò C. et al. Phytoremediation capability of native plant species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain. *J. Geochemical Exploration*. 2017. N 174. R. 10–20.
12. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem*. 1976. P. 248–254.
13. Laemmli U. K. Clevage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U. K. Laemmli. Natura. 1970. V. 227, N 52–59. P. 680.
14. Косаківська І. В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. Київ : Сталь, 2003. 192 с.
15. Косаковская И. В. Стрессовые белки растений. Киев : УФЦ, 2008. 200 с.
16. Терек К. В., Юркевич М. С., Речевська Н. Я. Нагромадження кадмію проростками кукурудзи та їх реакція на токсичну дію металу. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2000. Т. 32, № 6. С. 506–511.