

УДК 581.1

Л.В. Богуславська, В.В. Лашко, Н.Ф. Павлюкова

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010 Україна
e-mail: milbo@rambler.ru

БІЛКОВИЙ МЕТАБОЛІЗМ У ЗРІЛОМУ НАСІННІ *ACER PSEUDOPLATANUS* L. ЗА УМОВ ТЕХНОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Насіння, білки, поліпептидний склад, метаболізм

БІЛКОВИЙ МЕТАБОЛІЗМ У ЗРІЛОМУ НАСІННІ *ACER PSEUDOPLATANUS* L. ЗА УМОВ ТЕХНОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ. Л.В. Богуславська, В.В. Лашко, Н.Ф. Павлюкова. – Досліджено вміст та поліпептидний склад зрілого насіння *Acer pseudoplatanus* L. за умов техногенного навантаження. Встановлені зміни у вмісті та складі запасного білка насіння можуть відбиватися на розвитку репродуктивних органів.

БЕЛКОВЫЙ МЕТАБОЛИЗМ В ЗРЕЛЫХ СЕМЕНАХ *ACER PSEUDOPLATANUS* L. В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОЙ НАГРУЗКИ. Л.В. Богуславская, В.В. Лашко, Н.Ф. Павлюкова. – Исследованы содержание и полипептидный состав зрелых семян *Acer pseudoplatanus* L. в условиях техногенной нагрузки. Установленные изменения в содержании и составе запасных белков семян могут отражаться на развитии репродуктивных органов.

PROTEIN METABOLISM IN THE MATURE SEEDS OF *ACER PSEUDOPLATANUS* L. UNDER CONDITIONS OF TECHNOGENEOUS PRESSURE. L.V. Boguslavskaja, V.V. Lashko, N.F. Pavlyukova. – The content and polypeptide composition of the mature seeds of *Acer pseudoplatanus* L. under conditions of technogeneious pressure were investigated. The changes established in the content and composition of seed storage proteins can affect the development of the reproductive organs.

У теперішній час для оцінки забруднення навколишнього середовища використовують деревні рослини, які дозволяють проводити довготривалі дослідження в місцях підвищеної екологічної небезпеки (Илькун, 1978). Деревні рослини техногенних територій, які зазнають хронічної дії полутантів різної природи, характеризуються порушенням ряду фізіолого-біохімічних процесів. Найбільш різноманітний матеріал з цього питання одержано при вивченні фотосинтетичного апарату, водного обміну, анатомії і морфології вегетативних органів рослин. Електрофоретичні спектри множинних, генетично поліморфних білків, синтез яких детерміновано багатоалельними генами, є ефективними генетичними маркерами і дають більш пряму, ніж морфологічні ознаки, інформацію про генотип. Використання білкових маркерів відкрило принципово нові можливості в ідентифікації сортів, ліній, біотипів сільськогосподарських культур, виявленні генетичної мінливості в морфологічно однорідних зразках, дозволило визначити структуру, склад і динаміку сортопопуляцій (Конарев, 1983; Гаврилюк, 1987). Однією з найбільш поліморфних генетико-біохімічних систем є запасні білки насіння. Для деревних рослин, як перехреснозапилювальних, така можливість має особливе значення, оскільки кожне дерево являє собою своєрідну популяцію і характеризується генетичною мінливістю за різними ознаками, причому значна частина цієї мінливості не має відбиття в морфологічних ознаках. У зв'язку з цим з метою вивчення особливостей мінливості генеративного потомства в умовах техногенного забруднення було використано метод білкових маркерів, що базується на біологічній специфічності білків, яка виявляється електрофорезом. При цьому найбільш досконалими маркерами вважаються запасні білки, яким властива гетерогенність, мінливість в онтогенезі, стабільність складу в різних еколого-географічних умовах вирощування і поліморфізм.

Матеріали і методика досліджень

Об'єкт дослідження – насіння *Acer pseudoplatanus* L. Фізіолого-біохімічні показники вивчали в зрілому насінні, відібраному в жовтні на моніторингових точках м. Дніпропетровська: ботанічний сад (контроль, умовно чиста зона), головні автомагістралі – проспекти Гагаріна (I моніторингова точка), Кірова (II моніторингова точка), Героїв (III моніторингова точка) та ім. Газети "Правда" (IV моніторингова точка) (викиди автотранспорту). Насіння звільняли від верхньої оболонки, розмелювали на млині. Екстракцію проводили буфером 0,05М трис-НCl, рН 7,0, протягом двох годин при +4°C, періодично перемішуючи. Центрифугували 15 хвилин при 12000 об/хв. (+4°C), пернатант використовували для аналізу. Вміст білка визначали за методом Бредфорд (Bradford, 1976). Електрофоретичний аналіз запасних білків насіння здійснювали в 12,5%-му поліакриламідному гелі в денатуруючих умовах (Laemmli, 1970). Підрахунок електрофореграм проводили за програмою "Електрофор-менеджер" (2005). Статистичну обробку даних, отриманих у трьох аналітичних повторностях, проведено з використанням програми Microsoft Statistica 6.0, різницю між вибірками вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

При аналізі вмісту білка насіння *A. pseudoplatanus* встановлено, що в контролі він складав 6,60 мг/мл (табл. 1). Найвищий вміст зареєстровано на III точці – 8,47 мг/мл, що на 28% більше за контроль, а найнижчий – 4,06 мг/мл – на IV точці (на 39%). Для I та II точок вміст білка в насінні наближався до контрольного показника та складав 7,04 мг/мл (на 7% вище) та 6,57 мг/мл відповідно. Отже, найбільш суттєвий вплив на накопичення запасного білка зареєстровано на IV моніторинговій точці, що є свідченням значного впливу викидів автотранспорту на фізіологічні та метаболічні процеси в насінні.

Таблиця 1. Вміст запасного білка в зрілому насінні *Acer pseudoplatanus* за дії викидів автотранспорту

Моніторингова точка	Вміст білка, мг/мл	% до контролю
Ботанічний сад (контроль)	6,60±0,30	100,0
I	7,04±0,29	107,0
II	6,57±0,31	99,6
III	8,47±0,40	128,3
IV	4,06±0,19	61,5

Примітка: похибка вимірювання не перевищує 5% від середніх значень

За допомогою електрофоретичного аналізу запасних білків насіння *A. pseudoplatanus* виявлено їх видоспецифічність та різноманітність, а також зміни у складі і накопиченні певних поліпептидів в умовах антропогенного навантаження (табл. 2).

Таблиця 2. Поліпептидний склад розчинних білків зрілого насіння *Acer pseudoplatanus* за дії викидів автотранспорту

M _r , кД	Моніторингова точка				
	Ботанічний сад (контроль)	I пр. Гагаріна	II пр. Кірова	III пр. Героїв	IV пр. ім. Газети "Правда"
1	2	3	4	5	6
76,3	0,03	0,08	2,63	-	-
66,1	1,15	2,57	3,49	5,13	6,31
44,7	2,98	3,13	5,73	5,76	9,27
40,8	1,48	2,09	-	-	-
39,0	3,02	2,69	4,20	6,63	6,10
33,1	16,98	10,38	12,09	18,06	15,73
26,3	1,82	6,48	5,94	4,21	5,69
20,4	19,84	16,61	12,73	15,37	17,76
20,0	3,19	-	-	-	-

Закінчення таблиці 2

1	2	3	4	5	6
18,6	6,58	5,03	2,47	3,59	4,26
16,6	-	4,33	7,13	2,39	-
15,8	3,50	5,48	-	4,22	3,75
10,0	32,04	29,74	29,62	27,00	27,95

Примітка: похибка вимірювання не перевищує 5% від середніх значень

В контролі зареєстровано 13 компонентів, а для дослідних зразків – 10–13 поліпептидів з M_r від 10,0 до 76,3 кД. Встановлено, що головним проявом антропогенного навантаження є кількісні перебудови в компонентному складі запасних білків насіння. Як в контролі, так і в дослідних зразках відмічено наявність 8 постійних поліпептидів з M_r 10,0, 18,6, 20,4, 26,3, 33,1, 39,0, 44,7, 66,1 кД. Відносний вміст компонентів з M_r 66,1, 44,7, 39,0 та 26,3 кД суттєво збільшувався у порівнянні з контролем.

Найбільша кількість білка у зонах зафіксована у низькомолекулярних поліпептидів з M_r 10,0, 20,4 та 33,1 кД. Виявлено поліпептид з M_r 20,0 кД (лише у контролі).

У дослідних зразках білки з M_r 10,0, 18,6 та 20,4 кД показали знижену здатність до акумуляції у порівнянні з контролем, що може бути однією з причин зниження адаптаційного потенціалу в умовах антропогенного навантаження. Диференційна зміна активності генетичного апарату є основним механізмом, який забезпечує реалізацію захисних і адаптаційних реакцій. Адаптаційний синдром включає в себе значне зниження інтенсивності загального білкового синтезу. Це явище може бути не стільки результатом пошкоджень клітини, скільки типовим проявом захисної реакції, а часткове гальмування синтезу білка зменшує інтенсивність деструктивних процесів, викликаних антропогенним навантаженням (Колупаєв, 2001).

Висновки

За умов дії викидів автотранспорту у межах забрудненого міста суттєво змінюється рівень вмісту запасного білка насіння *Acer pseudoplatanus*, що згодом може відбиватися на розвитку репродуктивних органів рослин. Встановлені зміни показників білкового обміну та його метаболізму у насінні свідчать про досить високі рівні антропогенного забруднення у Дніпропетровську вздовж автомагістралей і можуть бути надалі використані для біотестування та оцінки стану деревних рослин в умовах техногенного навантаження.

Гаврилюк И. П. Запасные белки в сортовой идентификации двудольных растений / И. П. Гаврилюк // Материалы III Международного симпозиума ISTA "Biochemical identification of varieties". – Л. : ВИР, 1987. – С.15.

Илькун Т. М. Загрязнители атмосферы и растения / Т. М. Илькун. – К. : Наук. думка, 1978. – 247 с.
Колупаєв Ю. Є. Стресові реакції рослин: молекулярно-клітинний рівень / Ю. Є. Колупаєв. – Харків : Харків. держ. аграр. ун-т, 2001. – 173 с.

Конарев В. Г. Белки растений как генетические маркеры / В. Г. Конарев. – М. : Колос, 1983. – 320 с.

Bradford M. M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding / M. M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – P. 248–254.

Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4 / U. K. Laemmli // Natura. – 1970. – Vol. 227, N 52–59. – P. 680–685.

Надійшла 29.04.2013 р.

Рекомендує до друку
Н.О. Гавриленко