

мікроскопічних грибів і бактерій, які засвоюють азот органічних сполук.

2. Наявність тісного кореляційного зв'язку між чисельністю фосформобілізуючих бактерій з рівнем антропогенного навантаження ВМ, який визначали за допомогою СПЗ, та вмістом рухомого фосфору дає змогу використовувати їх

в системі екологічного моніторингу, як біоіндикатор забруднення ґрунту ВМ.

Перспективи подальших досліджень потрібно зосередити на розробці оціночної шкали рівня забруднення ґрунту ВМ залежно від активності фосформобілізуючих бактерій.

Список використаної літератури

1. Мелехова О. П. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / О. П. Мелехова, Е. И. Егорова. – М.: Издательский центр “Академия”, 2007. – 288 с.
2. Радюкина Н. Л. Современные представления о биохимических процессах в почве / Н. Л. Радюкина, А. В. Софьин, Н. Н. Кудрявцева, Л. О. Карпачевский // Вестник Московского университета. Сер. 17. Почвоведение. – 2001. – №2. – С.13–17.
3. Звягинцев Д. Г. Экологическая роль микробных метаболитов / Д. Г.Звягинцев. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – 240 с.
4. Худяков Я. П. Периодичность микробиологических процессов в почве / Я. П.Худяков // Труды Института микробиологии АН СССР. – 1985. – №5. – С. 150.
5. Пароменская Л. Н. Альгологический метод определения фитотоксичности почв / Л. Н. Пароменская, Н. Г. Гаранькина, И. Г. Моисеева, Ю. В. Круглов // Почвоведение. – 2001. – №6. – С. 708–712.
6. Перцовская А. Ф. Изменение биологической активности дерново-подзолистой почвы различного механического состава при загрязнении тяжелыми металлами / А. Ф. Перцовская, В. П. Плугин, Н. Л. Великанов // Гигиена и санитария. – 1990. – №7. – С. 20–23.
7. Загуральская Л. М. Воздействие промышленных загрязнений на микробиологические процессы в почвах бореальных лесов района Костомукши / Л. М. Загуральская, С. С. Зяченко // Почвоведение. – 1994. – №5. – С. 105–110.

Изучено токсическое действие тяжелых металлов на основные группы микроорганизмов, которые обуславливают плодородие почвы. Определены корреляционные зависимости и уравнения регрессии между суммарным показателем загрязнения почвы тяжелыми металлами, подвижными формами макроэлементов и численностью микроорганизмов. Предложено использовать фосформобилизующие бактерии для биоиндикации загрязнения почвы тяжелыми металлами.

Ключевые слова: тяжелые металлы, техногенное загрязнение, биоиндикаторы, экологический мониторинг, фосформобилизующие бактерии, микроорганизмы, плодородие почвы.

The toxic effects of the heavy metal on the main groups of the microorganisms of the soil fertility has been studied. The correlations and regression equation were determined between the total index of the soil pollution by the heavy metals, available forms of the macroelements and the number of microorganisms. Phosphorus mobilizing bacteria has been proposed to use for the bioindication of the soil pollution by the heavy metals.

Key words: heavy metals, man-caused pollution, bio-indicators, ecological monitoring, phosphorus mobilizing bacteria, microorganisms, soil fertility.

Дата надходження в редакцію: 10.04.2012 р.

Рецензент: Е.А. Захарченко.

УДК 577.1::539.1

МІНЛИВІСТЬ КОМПОНЕНТІВ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ НАСІННЯ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ДІЇ ГАММА-ОПРОМІНЕННЯ

Панкова О.В., здобувач

Пузік В.К., д-р с.-г. наук, професор

Головань Л.В., викладач

Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

У статті досліджується питання впливу гамма-опромінення у різних дозах на електрофоретичний спектр запасних білків насіння та проростків пшениці. Отримані результати експерименту свідчать про високу мінливість запасних білків під впливом гамма-променів у варіанті досліду з дозою 150 Гр – в насінні, та 200 Гр – в проростках. Встановлено, що під впливом гамма-опромінення в клітинах проростків пшениці змінюється білковий обмін, зокрема, індукція нових компонентів у спектрі запасних білків насіння та проростків у малорухомій фракції легкорозчинних білків ω та γ . Помітні зміни у спектрі легкорозчинних білків під дією гамма-променів

говорять про їх вплив на генний рівень регуляції синтезу різноманітних білків та активацію експресії певних генів. У результаті цього відбувається модифікація регуляторного механізму рослини на генетичному і метаболічному рівнях.

Ключові слова: гамма-опромінення, запасні білки насіння, пшениця яра, електрофорез, піstonові фракції

Постановка проблеми у загальному вигляді.

Прогрес в селекції рослин залежить від надійної інформації про особливості генотипу, а також нових способів оцінки батьківських форм для гібридизації. Розроблені теоретичні основи використання деяких ознак у тому числі, індивідуальних білків, в якості генетичних маркерів. Вони є продуктами експресії структурних генів. Їх склад достатньо повно відображає походження генотипу та його індивідуальних особливостей [1].

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Надійними білковими маркерами є запасні білки. Вони зручні для аналізу генетичної мінливості, оскільки їх експресія не залежить від умов вирощування [2]. Запасні білки злаків представляють собою важливу групу рослинних білків, які відрізняються значною гетерогенністю та значним генетично детермінованим поліморфізмом. Гліадини є гетерогенною групою запасних білків, розчинних у спиртах. Як біохімічні маркери вони є поліморфними, а тому різняться не лише у різних видів, але й у різних сортів, і точно відображають родовід генетичного матеріалу [3]. Оцінка селекційного матеріалу на основі білкових маркерів дає можливість швидко та якісно проводити відбір та контролювати передачу бажаних ознак від батьківських форм у гібридні популяції. Як білкові маркери для визначення якості зерна пшениці в селекції частіше використовують запасні білки, зокрема гліадини [4]. Гліадини кодують шість не зчеплених генів (*Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2*), розташованих на хромосомах 1 та 6 гомеологічних груп. Гени гліадинів мають множинні алелі та є кластерними – їх продукти утворюють блоки електрофоретичних компонентів. За зростанням електрофоретичної рухливості компонентів спектр гліадинів поділяють на 4 зони: ω , γ , β та α [3]. В межах кожної зони кількість, рухливість та інтенсивність компонентів варіює залежно від генотипу.

Роботами багатьох генетиків встановлено, що електрофоретичний спектр гліадинів визначається тільки спадковими особливостями генотипів та не змінюється під впливом умов середовища. Кожен сорт має свій, тільки йому притаманний спектр [5].

Ріст – один із первинних, основних проявів рослинного організму, який залежить від сукупності та інтенсивності обмінних процесів і є досить чутливим до іонізуючого опромінення [6]. У зонах активного клітинного ділення інтенсивно протікають процеси обміну речовин, їх регуляцією можна впливати на ріст рослин, продуктивність та фізіологічний стан. Радіоактивні елементи здатні проникати

всередину опроміненого об'єкта і вступати у взаємодію з його структурами і компонентами, оскільки енергія квантів і заряджених частинок істотно перевищує енергію внутрішньомолекулярних зв'язків. Іонізуюче випромінювання призводить як до пошкодження хімічних зв'язків молекул, що входять до складу клітин, так і іонізації, або порушення молекул, що у свою чергу, змінює клітинні структури, порушує процеси обміну речовин і фізіологічні функції організму в цілому [3,7,8].

Встановлення функціонального зв'язку між генами і синтезом білків розширило можливість генетичного аналізу організмів. Мутанти зміни генів часто призводять до зміни кодованого ними білка і пов'язаної з цим зміни його функції. Методи електрофорезу широко використовують у наукових дослідженнях для вивчення компонентного складу білків організму [9]. Ці методи є у достатній мірі інформативними, оскільки дають змогу оцінювати функціональний стан організму за особливостями міграції білкових фракцій та на основі пофракційного перерозподілу окремих індивідуальних білків, що входять до їх складу.

Оскільки основним результатом впливу іонізуючого опромінення є окислювальні пошкодження молекул ДНК з подальшими змінами в процесі біосинтезу білка, важливим є дослідження в змінах спектрів білків після обробки насіння гамма-променями. Білок-синтезуюча система відіграє визначну роль в адаптації до різних стресів, до яких відноситься і гамма-опромінення.

Формулювання цілей статті. Виходячи з вищесказаного, метою нашої роботи було дослідження впливу гамма-опромінення у різних дозах на електрофоретичний спектр запасних білків насіння та проростків м'якої та твердої пшениці.

Матеріали та методи. Для аналізу нами були вибрані два представники: м'якої ярої пшениці (*Triticum aestivum*) – сорт Героїня та твердої пшениці (*Triticum durum*) – сорт Чадо. Насіння різних сортів пшениці обробляли гамма-променями, джерелом яких був ^{60}Co , на установці «Theratron Elit-80» (інтенсивність випромінювача 7442 Ku). Насіння обробляли опроміненням у дозах: 100 Гр, 150 Гр, 200 Гр, 250 Гр. Як контроль використовували насіння без обробки. Електрофорез запасних білків у поліакріламідному гелі виконували за методикою Ф. О. Поперелі [10]. Експеримент розділяли на дві складові: „насіння” і „проростки”. У варіанті „насіння” вивчали спектр запасних білків, а у варіанті „проростки” – насіння пророщували при температурі 18-20 °С протягом 3-4-х діб до появи

ростків не менше довжини насіння і корінців довжиною 2-3 см. Після цього досліджуваний матеріал фіксували у сушильній шафі при температурі +130 °С і проводили аналіз. Зразки характеризували за гліадиновими спектрами шляхом позернового аналізу. Розмір випадкової вибірки становив 50 – 60 зернівок на зразок.

Виклад основного матеріалу. Отримані результати показали, що дія гамма-опромінення на насіння різних сортів пшениці ярої стимулює появу нових компонентів у електрофоретичному спектрі запасних білків. Так, спектр білків насіння ярої м'якої пшениці сорту Героїня (рис. 1 А) після дії гамма-променів у дозі 150 Гр має різницю між варіантами обробки як за кількістю, так і за інтенсивністю появи компонентів гліадину. У варіантах досліді з дозою 150 Гр (трек № 3)

зафіксовано зникнення повільних компонентів у зоні ω (компоненти відзначені колом на рис. 1) та збільшення інтенсивності компоненту в зоні γ (компонент відзначений стрілкою на рис. 1 А).

Аналіз результатів електрофорезу запасних білків ярої твердої пшениці Чадо (рис. 1 Б) показав появу одних повільних компонентів, не характерних для гліадинового спектра цього сорту (компоненти відзначені стрілкою на рис. 1 Б) та зникнення іншого (компонент відзначений колом на рис. 1Б, трек №1) в ω -зоні. Порівнюючи білкові спектри варіантів досліді 100 Гр, 200 Гр, 250 Гр з контролем не було виявлено істотних змін у складі гістонових фракцій після опромінення, не залежно від вибору сорту, як у випадку м'якої пшениці Героїня, так і у випадку твердої пшениці Чадо.

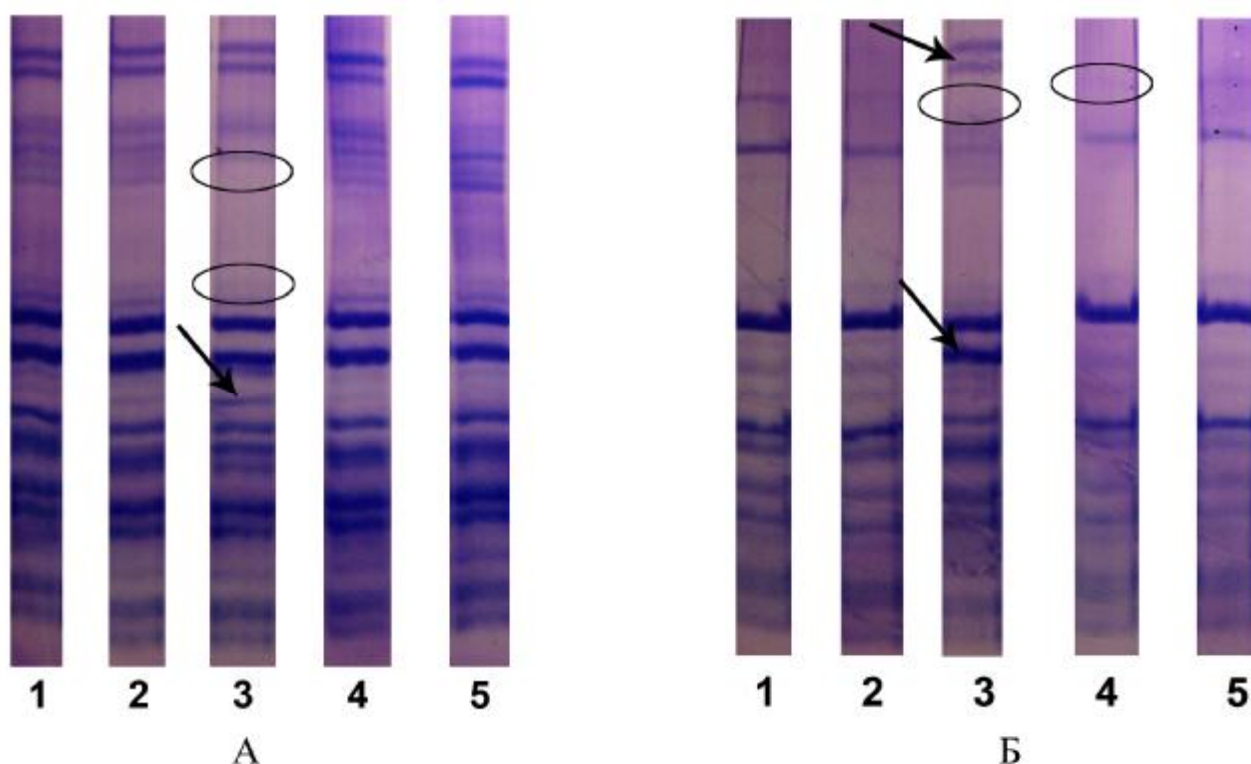


Рис. 1. Електрофореграма запасних білків насіння ярої м'якої пшениці сорту Героїня (А) та твердої Чадо (Б) залежно від дії гамма-променів (Умовні позначки: треки 1 – контроль; 2 – 100 Гр; 3 – 150 Гр; 4 – 200 Гр; 5 – 250 Гр)

Отримані результати узгоджуються з літературними даними [9], в яких появу нових білкових компонентів обумовлюють такі причини: 1. Тісний зв'язок порушень клітинних структур з вивільненням нових форм. 2. Синтез de novo. 3. Гормональна регуляція біосинтезу білкових молекул (за схемою Жакобо і Моно). Поява нових форм білка пояснюється перебудовою, яка проходить у молекулах ДНК (Гродзинский Д.М. Антропогенная [11]). Вона призводить до зниження мітотичної активності клітин кореневої меристеми, що підтверджується нашими дослідіми.

Відомо, що, ефект малих доз радіації (до 200 Гр) реалізується в експресії синтезу білків теплового шоку [7]. Після опромінення рослин

високими дозами гамма-радіації синтезується de novo група низкомолекулярних білків, які не є продуктом розпаду високомолекулярних поліпептидів [12]. Цим можливо пояснити появу нових компонентів в спектрі білків.

Отримані результати показують, що у проростків м'якої пшениці сорту Героїня після обробки гамма-променями спостерігалися деякі відмінності у появі компонентів гліадинового спектра. Так, у варіанті досліді з дозою 200 Гр (рис. 2 А, трек № 4) виявлено відсутність мажорного компоненту у ω – зоні спектра, який характерний для сорту Героїня (показано колом на рис. 2 А), та появу γ -компоненту (показано стрілкою на рис. 2 А).

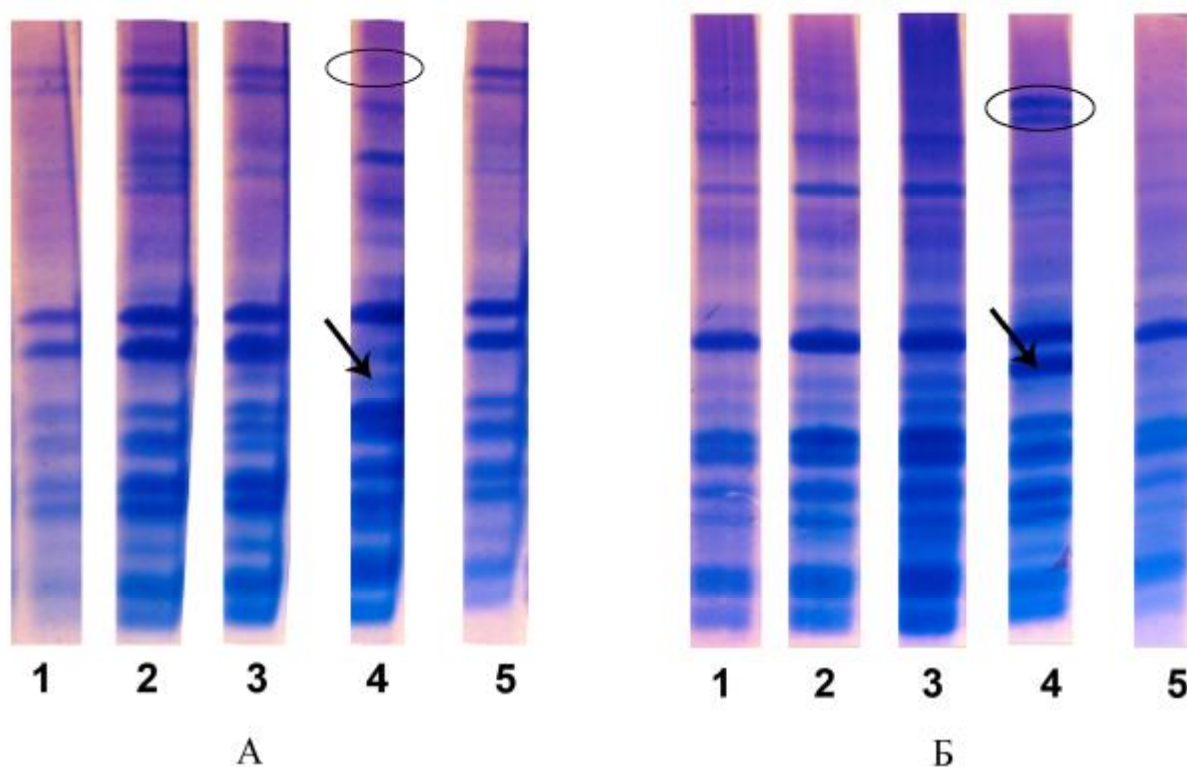


Рис. 2. Електрофореграма запасних білків 3-добових проростків ярої м'якої пшениці сорту Героїня (А) та твердої Чадо (Б) залежно від дії гамма-променів (Умовні позначки: треки 1 – контроль; 2 – 100 Гр; 3 – 150 Гр; 4 – 200 Гр; 5 – 250 Гр)

При аналізі спектру запасних білків 3-х денних проростків твердої пшениці ярої сорту Чадо під впливом гамма-променів виявлено такі зміни. У варіанті досліду з дозою 200 Гр (трек № 4) зафіксовано виникнення іншого блоку компонентів гліадинів у γ – зоні спектра. Цей блок не характерний для сорту Чадо (блок показано колом на рис. 2Б). Очевидно, що дія гамма-променів переорієнтовує регуляторний механізм рослинного організму на генетичному і метаболічному рівнях, що стимулює появу нових компонентів. Також у варіанті 200 Гр спостерігалася поява нового γ -компоненту спектра запасних білків, який відмічене стрілкою (рис. 2 Б).

Таким чином, встановлено, що під впливом гамма-опромінення в клітинах проростків пшениці змінюється білковий обмін, зокрема, індукція нових компонентів у спектрі запасних білків насіння та проростків у малорухомій фракції легкорозчинних білків ω та γ , що підтверджується даними інших дослідників (3, 7,11,13).

Висновки. Отримані результати експерименту свідчать про високу мінливість запасних білків під впливом гамма-променів перш за все у варіанті досліду з дозою 150 Гр – в насінні, та 200 Гр – в проростках. Тобто, ми можемо зробити припущення, що зміни в спектрі запасних білків в результаті дії опромінення дозою 200 Гр має пролонговану дію і проявляються лише в проростаючому насінні. Ефект опромінення насіння гамма-променями дозою 150 Гр насіння який проявляється в змінах у спектрі гліадинів не зберігається в 3-х денних проростках. Описані результати, на нашу думку можуть свідчити про активні репараційні процеси. Помітні зміни у спектрі легкорозчинних білків під дією гамма-променів говорять про їх вплив на генний рівень регуляції синтезу різноманітних білків та активацію експресії певних генів. У результаті цього відбувається модифікація регуляторного механізму рослини на генетичному і метаболічному рівнях.

Список використаної літератури

1. Конарев В. Г. Белки растений как генетические маркеры. - М.: Колос, 1983. - С. 320.
2. Котеров А. Н. Адаптация к облучению in vivo / А. Н. Котеров, А. В. Никольский // Радиационная биология. - 1999. - № 6 (39). - С. 648-662.
3. Гудков Д. И. Клеточные механизмы пострadiационного восстановления растений / Д. И. Гудков. - К.: Наук. думка, 1985. - 224 с.
4. Драгович А. Ю. Закономерности формирования биоразнообразия вида мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. по генам запасных белков: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра біол. наук: спец. 03.00.15 «Генетика» / Драгович Александра Юрьевич. - М., 2008. - 41 с.

5. Неттевич Э. Д. Методы электрофореза при изучении внутрисортовой изменчивости качества зерна пшеницы / Э. Д. Неттевич, Н. С. Беркутова, Л. Г. Погорелова // Селекция и семеноводство. 1983. - № 11. - С. 9.
6. Гродзинський Д. М. Інформаційне середовище онтогенезу в нормі та при антропогенних впливах / Д. М. Гродзинський // Онтогенез рослин у природному і трансформованому середовищі: міжн. конф, 1998: матеріали конф. – Л.: Сполом, 1998. – С. 5–6.
7. Косаківська І. В. Вплив іонізуючого опромінення на життєдіяльність рослин / І. В. Косаківська, Н. В. Гудкова // Укр. ботан. журн. – 2002. – Т. 59, № 3. – С. 246–250.
8. Коломиец О. Д. Биосинтез белков и радиационные эффекты в клетке / О.Д. Коломиец – К.: Наук. думка, 1982. – 182 с.
9. Рубин Б. А. Биохимия и физиология иммунитета растений / Б. А. Рубин – М.: Высш. Шк., 1975. – 303 с.
10. Попереля Ф. О. Три основні генетичні системи якості зерна озимої м'якої пшениці / Ф. О. Попереля // Реалізація потенційних можливостей сортів та гібридів Селекційно-генетичного інституту в умовах України: Зб. наук. праць СГІ. – Одеса, 1996. – С. 117 – 132.
11. Каримов А. Я. Исследование индекса генетической схожести и идентификация сортов мягкой пшеницы способом глиадинового маркера / А.Я. Каримов // Современные проблемы науки и образования. Биологические науки. – 2009 – №6. – С. 13-21.
12. Влияние ионизирующего излучения на синтез белков этиолированных проростков озимой пшеницы / [Гудкова Н. В., Косаковская И. В., Кравець В. С., Майор П. С.] // Физиол. и биохим. культ. раст. – 2001. – Т. 33, № 2. – С. 121–126.
13. Гродзинский Д. М. Антропогенная радионуклидная аномалия и растения / Гродзинский Д.М., Коломиец К.Д., Кутлахмедов Ю.А. – Киев: Лыбидь, 1991. – 160 с.

В статье исследуется вопрос влияния гамма-излучения в разных дозах на электрофоретический спектр запасных белков семян и проростков пшеницы. Полученные результаты эксперимента свидетельствуют о высокой переменчивости запасных белков под воздействием гамма-лучей прежде всего в варианте опыта с дозой 150 Гр - в семенах, и 200 Гр - в проростках. Установлено, что под влиянием гамма-облучения в клетках проростков пшеницы изменяется белковый обмен, в частности, индукция новых компонентов в спектре запасных белков семян и проростков в малоподвижной фракции легкорастворимых белков ω и γ . Заметные изменения в спектре легкорастворимых белков под действием гамма-лучей говорят об их влиянии на генный уровень регуляции синтеза разнообразных белков и активацию экспрессии определенных генов. В результате этого происходит модификация регуляторного механизма растения на генетическом и метаболическом уровнях.

Ключові слова: гамма-облучение, запасные белки семян, пшеница ярая, электрофорез, гистоновые фракции.

In the article the question of influence of gamma-radiation is investigated in different doses on the electrophoresis spectrum of spare proteins of seed and plantlets of wheat. The results of experiment testify about high changeability of spare proteins under act of gamma-rays foremost in the variant of experience with a dose 150 gram - in seed, and 200 gram - in plantlets. It is set that under influence a gamma-irradiation in the cages of plantlets of wheat changes proteometabolism, in particular, induction of new components in the spectrum of spare proteins of seed and plantlets in not mobile faction of easily soluble proteins ω and γ . Noticeable changes in the spectrum of easily soluble proteins under the action of gamma-rays talk about their influence on the genic level of adjusting of synthesis of various proteins and activating of expression of certain genes. As a result of it there is modification of regulator mechanism of plant on genetic and metabolic levels.

Ключові слова: gamma-radiation, spare proteins of seeds, spring wheat, electrophoresis, histone factions.

Дата надходження в редакцію 22.04.2012 р.
Рецензент В.А. Власенко