



Матеріали XXII Міжнародної науково-практичної конференції
«Екологія. Людина. Суспільство» (м. Київ, Україна, 2021 р.)

Handbook of the XXII International Science Conference
«Ecology. Human. Society» (2021 Kyiv, Ukraine)

ISSN (Online) 2710-3315

<https://doi.org/10.20535/EHS.2021.233167>

УДК 581.1

ЗМІНИ ВМІСТУ ФЕРМЕНТУ РУБІСКО В ЛИСТКАХ РОСЛИН ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ РІЗНИХ СОРТІВ ЗА ДІЇ ПОСУХИ

В.О. Власюк¹, О.Ю. Бондаренко^{1,2}

¹ Київський Палац дітей та юнацтва

вул. Івана Мазепи, 13, Київ, 01010, Україна,

² Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

вул. Васильківська 31/17, Київ, 03022, Україна

e-mail: flamingo7pink@gmail.com

Нині на стан біосфери Землі діє значимий антропогенний фактор. У зв'язку з цим, зміни клімату, в порівнянні з характерною для звичного середовища існування того чи іншого виду, можуть істотно впливати на фотосинтез, що, в свою чергу, істотно впливає на врожайність сільськогосподарських культур. Відома певна кількість біологічних маркерів, за якими визначають посухо-, морозо-, термостійкість рослин. Але всі вони проявляються за дії стресового фактора. Фотосинтез – найбільш важливий, водночас і найбільш вразливий біологічний процес. Фермент рибулозобісфосфаткарбоксилаза (РБФК/О) є основним лімітуючим внутрішнім фактором фотосинтезу [1, 2]. При дослідженні адаптації фотосинтетичного апарату рослин до недостатнього водозабезпечення, в якості важливої ключової ланки розглядається вміст ферменту РБФК/О (РуБісКО) в листках за нормальних умов вирощування, а також можливість синтезу цього ферменту за дії стресу. Для дослідження залежності вмісту цього ферменту та стійкості фотосинтетичного апарату листків рослин до посухи було обрано такі продовольчі сорти озимої м'якої пшениці “Єдність” і “Подільська Нива”, досліджуваним об'єктом було обрано фермент РуБісКО.

Метою дослідження було отримати інформацію про кількісний вміст ферменту РуБісКО в прапорцевих листках рослин пшениці різних сортів при посузі, порівняти ці показники відносно показників за нормальних умов.

РуБісКО є основним карбоксилюючим ферментом більшості автотрофів та фотосинтетичних бактерій. Виявлено, що фермент РБФК/О складає приблизно половину всього білку в листках рослин [1]. РуБісКО – високомолекулярна сполука, де молекулярна маса дорівнює 550 кДа. Складається з двох типів субодиниць: вісім великих (L, 50-55 кДа) і вісім малих (S, 12-18 кДа) [1]. РуБісКО також каталізує процес фотодихання, окислюючи молекулу РДФ з утворенням молекули ФГК і молекули фосфогліколевої кислоти. Частка малих субодиниць становить 25-29 % загального вмісту білку вищих рослин, не містить активного центру і не має каталітичної функції [2]. РуБісКО існує в двох станах: вільному і зв'язаному. Біологічна роль мембранозв'язаних форм РуБісКО полягає в регуляції співвідношення інтенсивності процесів фотосинтезу і фотодихання при різних фізіологічних станах рослин.

РуБісКО - це унікальна модель для вивчення впливу патогенних процесів на рослинну клітину. Фотосинтетичний апарат окремих рослин не пошкоджується в умовах підвищених

температур та зміни водозабезпечення, здатний відновлювати функціональну активність хлоропластів при відновленні водного режиму та зниженні температури до нормальної. Температурний та водний режими впливають на вміст хлорофілу, білків світло збирального комплексу, цитохрому та кількість РуБісКО [3]. Одним із чинників, що впливає на активність фотосинтетичного апарату рослин, є водний дефіцит. Результати впливу посухи на фотосинтетичний апарат, загальний метаболізм і продукційний процес рослин вивчаються давно, проте до сих пір залишається багато питань. Посуха є основним обмежуючим фактором продуктивності багатьох сільськогосподарських культур [4]. Пригнічення росту рослин в умовах нестачі вологи відбувається переважно внаслідок різниці між поглинанням і втратами CO₂, який залежить від співвідношення процесів фотосинтезу і дихання. Показано, що обмеження процесів дифузії CO₂ до центрів карбоксилування (внаслідок зменшення провідності продихів і клітин мезофілу) є головною причиною пригнічення інтенсивності фотосинтезу в умовах посухи [5].

Існує припущення, що глобальні екологічні зміни спричиняють зсув ланок лімітування продуктивності фотосинтетичного апарату, серед яких на перший план вийдуть транспорт електронів і функціонування ферменту РБФК/О. Експерименти свідчать, що зі збільшенням концентрації CO₂ термотолерантність C₃-рослини підвищується, C₄-рослини - не змінюється [6]. Однак зростання концентрації CO₂ при високій температурі супроводжується зменшенням інтенсивності транспорту електронів фотосинтетичного ланцюга як у C₃-, так і C₄-рослини.

Рослини пшениці обраних сортів вирощували в однакових контрольованих умовах, в період розвитку підтримували рівень водозабезпечення 70 % від повної вологоємності суміші. В період цвітіння в посудинах досліджуваних варіантів водозабезпечення знижували до 30 %. Контрольні варіанти продовжували підтримувати вміст вологи в ґрунтосуміші на рівні 70 %. На 7 день посухи відбирали прапорцеві листки, з яких отримували зразки листкової маси для дослідження вмісту ферменту РуБісКО всіх варіантів. Зразки розтирали в охолоджених ступках при температурі від 0-2 °С і екстрагували білок у 4 мл охолодженого до тієї ж температури трис-НСІ (рН 7,8) буферного розчину. Очищення білкової суміші від частинок зруйнованих клітин проводили методом центрифугування при 1200g і температурі +4 °С протягом 10 хв. Аналіз вмісту білка проводили методом гель-електрофорезу в ПААГ в буферній системі Леммлі. Електрофорез проводили при 1,5 W на пластину протягом 3 годин. Гель (рис. 1) фарбували 0,3 % розчином барвника Brilliant Blue R, Sigma. Гелі аналізували за допомогою програми "Gelobrob". Вміст РБФК/О визначали за інтенсивністю забарвлення та шириною смуг великої субодиниці та розраховували за калібрувальною залежністю для БСА.

Аналіз отриманих денситограм білкових доріжок гелів показав, що в прапорцевих листках рослин озимої пшениці сортів Єдність в контрольному варіанті вміст РБФК/О складав 27,81±2,76 мг/г листка, в контрольному варіанті сорту Подільська Нива цей показник складав 22,15±0,46 мг/г. За дії 7-денної посухи цей показник зменшувався в обох сортах – 18,20±1,66 мг/г (сорт Єдність), та 20,98±0,16 мг/г (сорт Подільська Нива), але в листках озимої пшениці сорту Подільська Нива при невисокому вмісті контрольного варіанту, дія посухи зменшила вміст ферменту неістотно. При цьому він виявився вище за дослідний варіант сорту Єдність. Цей факт може свідчити про те, що рослини пшениці озимої сорту Подільська Нива більш стійкі по даному показнику.

У ході досліджень та аналізу вмісту ферменту РБФК/О в клітинах прапорцевих листків рослин озимої пшениці сортів Єдність та Подільська Нива за допомогою методів електрофоретичного розділення в ПААГ та обробки отриманих гель-пластинок було отримано такі результати:

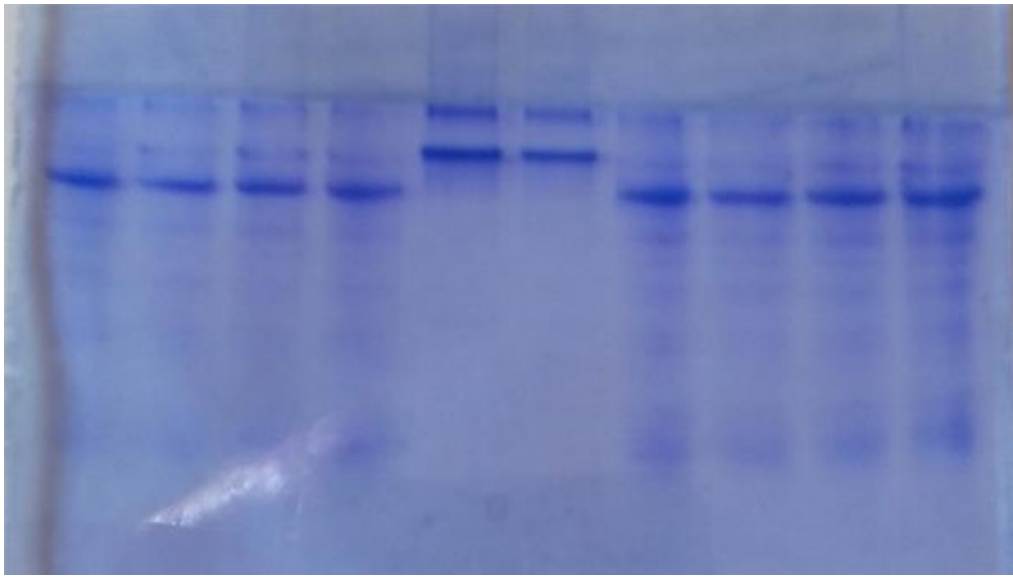


Рисунок. Гель, отриманий методом електрофорезу досліджуваних зразків в ПААГ. 5,6 доріжка-маркер (БСА)

1. Показано, що вміст ферменту РубісКО в рослинах озимої пшениці сорту Єдність за дії 7-денної посухи знижується на 35 %.
2. Вперше показано, що при таких самих умовах в рослинах озимої пшениці сорту Подільська Нива показник вмісту ферменту РубісКО зменшується не істотно – на 5 %.
3. Аналіз змін вмісту ферменту РубісКО в різних сортах озимої пшениці за дії посухи показав більш високу пластичність, що може свідчити й про стійкість фотосинтетичного апарату листків рослин сорту Подільська Нива.

Література:

1. Д.А. Киризий, О.О. Стасик, Г.А. Прядкина, Т.М. Шадчина. Фотосинтез: ассимиляция CO₂ и механизмы ее регуляции: Ф 81 [монография: в 3-х т.] том 2 . – К.: Логос, 2014. Т. 2. 480 с. – 14 с.
2. И. В. Косаковская. Стрессовые белки растений. – Киев, 2008 – 153 с. – 77 с.
3. A. Makino, H. Nakano, T. Mae. Effects of Growth Temperature on the Responses of Ribulose-1,5-Biphosphate Carboxylase, Electron Transport Components, and Sucrose Synthesis Enzymes to Leaf Nitrogen in Rice, and Their Relationships to Photosynthesis – 1994.
4. Martin A.J. Parry, P. John Andralojc, Shanbaz Khan, Peter J. Lea and Alfred J. Keys Rubisco Activity: Effects of Drought Stress. – 2002.
5. Flexas J., Bota J., Galmes J. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress – 352 с. – 127 с.
6. Моргун В.В., Киризий Д.А., Шадчина Т.М. “Физиология и биохимия культурных растений. Экофизиологические и генетические аспекты адаптации культурных растений к глобальным изменениям климата”, Київ. – 2010.