

УДК 581.19:577.156

**О. В. Тихонова¹, асп., О. О. Молодченкова², канд біол. наук,
В. Г. Адамовська², канд с.-х. наук, С. А. Петров¹, д-р біол. наук, проф.**

¹ Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна. Тел.: (0482) 68-78-75

² Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннезнавства
та сортовивчення Української академії аграрних наук,
лабораторія біохімії та фізіології рослин,
Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна. Тел.: 39-54-73

МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ У ТКАНИНАХ ПАРОСТКІВ КУКУРУДЗИ ПІД ВПЛИВОМ ВОДЯНОГО ТА ТЕПЛОВОГО СТРЕС-ФАКТОРІВ

Досліджені зміни в амілолітичній активності та вмісті редукуючих цукрів у тканинах паростків кукурудзи (*Zea mays L.*) під впливом водяного дефіциту (ВД), теплового шоку (ТШ) та їх сумісної дії. Показано, що у тканинах паростків стійкої лінії активність амілази знижується під впливом дії ВД і сумісної дії стресорів ВД та ТШ. Припускається вплив накопичених у процесі експерименту редукуючих цукрів. Підвищений вміст моно-та дисахаридів в тканинах стійкої лінії свідчить про адаптивну реакцію паростків на дію стресорів.

Ключові слова: кукурудза, амілаза, моносахариди, дисахариди, стрес.

Серед різноманітних біохімічних реакцій, що відбуваються у рослині за дії несприятливих факторів середовища, спостерігаються зміни в активності ферментних систем, зокрема енергетичного обміну [1, 2, 3].

В деградації крохмалю, основної запасної речовини злаків, за пророщування приймає участь ряд ферментів, але амілаза відіграє найбільш важливу роль, тому що вона є ключовим ферментом цього процесу [4]. Амілаза забезпечує низькомолекулярними вуглеводами процеси синтезу у тканинах паростків. Водночас відбувається накопичення осмотично активних речовин, що підтримують ріст рослин, а також сприяють розвитку витривалості до зневоднення [5, 6, 7].

Мета роботи — з'ясувати можливі механізми зміни активності амілази та вмісту редукуючих цукрів у паростках кукурудзи, що зазнали дії водяного дефіциту (ВД) і теплового шоку (ТШ).

Матеріали і методи

Досліджували 3-добові паростки ліній кукурудзи (*Zea mays L.*), які відрізнялися за ознакою посухостійкості (стійка лінія — Од329зМ, чутлива лінія — См7SLзМ).

У дослідах використовували неушкоджені зернівки кукурудзи, які пропрощували на фільтрувальному папері у термостаті при температурі

рі 25 °С за відносної вологості повітря 60 %. Водяний дефіцит (ВД) відтворювали, поміщаючи паростки в камеру з вологістю повітря 35–40%. Тепловий шок (ТШ) відтворювали шляхом розміщення рослин в терmostаті при 37 °С. Тривалість дії стресових факторів — 6 годин. Рослини контрольного варіанту впродовж досліду знаходилися в умовах оптимального зволоження при температурі 25 °С. По закінченні експозиції відпредаровані надземні частини, ендосперм та коріння паростків заморожували при — 70 °С.

Активність амілази визначали за методом Вольгемута [8]. Питому активність обчислювали в нкат/г білка. Вміст білка визначали за методом Lowry [9].

Вміст редукуючих цукрів визначали за методом Калініна Ф. Л. і Ястремович Н. І. [10] та перераховували у відсотках від сухої речовини.

Статистичну значимість відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерія Ст'юдента [11].

Результати та їх обговорення

Основним місцем каталітичної активності амілази було виявлено, як і передбачалося, ендосперм, де і відбуваються процеси гідролізу крохмалю. Проте, вірогідних змін в активності амілази під впливом стрес-факторів порівняно з контролем у тканинах ендосперму не помічено (табл. 1). Це можна пояснити бар'єрними функціями оболонок зерна, завдяки яким дія стресових факторів була затримана. Проте, виявлено тенденцію до зниження активності ферменту у чутливої лінії при сумісній дії стресорів, тоді як у стійкої лінії цей показник наближається до контрольних значень.

Таблиця 1
Активність амілази в паростках ліній кукурудзи під впливом стрес-факторів, нкат/г білка

Лінії	Об'єкти дослідження	Варіанти досліду			
		Контроль	ВД	ТШ	ВД + ТШ
Стійка лінія Од329зМ	Ендосперм	$52,42 \times 10^3$ $\pm 1,52 \times 10^3$	$46,45 \times 10^3$ $\pm 1,35 \times 10^3$	$47,74 \times 10^3$ $\pm 1,39 \times 10^3$	$49,88 \times 10^3$ $\pm 1,45 \times 10^3$
	Надземні органи	$142,89 \pm 4,15$	$83,55 \pm 2,43^*$	$132,99 \pm 3,86$	$93,44 \pm 2,71^*$
	Коріння	$678,10 \pm 19,69$	$544,21 \pm 15,80^*$	$618,01 \pm 17,90$	$449,50 \pm 13,05^*$
Чутлива лінія См7SLзМ	Ендосперм	$75,78 \times 10^3$ $\pm 2,19 \times 10^3$	$76,90 \times 10^3$ $\pm 2,23 \times 10^3$	$71,39 \times 10^3$ $\pm 2,07 \times 10^3$	$64,32 \times 10^3$ $\pm 1,87 \times 10^3$
	Надземні органи	$111,12 \pm 3,22$	$67,98 \pm 1,97^*$	$140,28 \pm 4,07^*$	$95,54 \pm 2,78$
	Коріння	$959,50 \pm 27,86$	$992,88 \pm 28,83$	$1205,35 \pm 34,99^*$	$551,99 \pm 16,00^*$

Примітка: * $p < 0,05$

Щодо інших об'єктів дослідження, то в них спостерігалося значне зменшення активності ферменту, особливо за сумісної дії стрес-факторів.

Враховуючи те, що кінцевими продуктами гідролізу крохмалю є низькомолекулярні вуглеводи, ми вивчили вплив стрес-факторів на вміст моно- і дисахаридів у тканинах паростків кукурудзи.

Результати цих досліджень продемонстрували значне збільшення вмісту моносахаридів у тканинах паростків за умов дії стрес-факторів (табл. 2).

Слід зауважити, що вищезазначені закономірності були більш виразними у випадку стійкої лінії порівняно з чутливою.

Якщо співставити результати таблиць 1 і 2, то можна стверджувати, що зменшення активності ферменту у тканинах паростків стійкої лінії пов'язано з вірогідним збільшенням вмісту моносахаридів (у 2–4 рази), що мають властивість пригнічувати активність ферменту по принципу зворотного зв'язку [12]. Ймовірно, попереднє накопичення моносахаридів призвело до часткової інактивації амілази для попередження подальшого гідролізу полісахаридів. Це припущення не суперечить можливому поясненню змін в активності амілази тканин паростків чутливої лінії, де збільшення вмісту моносахаридів в умовах дослідів максимально є двократним.

Таблиця 2

Вміст моносахаридів у паростках ліній кукурудзи під впливом стрес-факторів, % від сухої речовини

Лінії	Об'єкти дослідження	Варіанти досліду			
		Контроль	ВД	ТШ	ВД + ТШ
Стійка лінія Од329зМ	Ендосперм	0,70±0,02	0,78±0,02	0,72±0,02	0,52±0,02*
	Надземні органи	0,35±0,01	0,58±0,02*	1,04±0,03*	1,44±0,04*
	Коріння	0,31±0,01	1,44±0,04*	1,03±0,03*	1,27±0,04*
Чутлива лінія См7SLзМ	Ендосперм	0,52±0,02	0,78±0,02*	0,78±0,02*	0,66±0,02*
	Надземні органи	0,62±0,02	0,76±0,02*	1,14±0,03*	1,12±0,03*
	Коріння	0,55±0,02	0,48±0,01	1,11±0,03*	1,26±0,04*

Примітка: * $p<0,05$

За визначення вмісту дисахаридів нами отримано наступні результати (табл. 3).

Слід звернути увагу на зменшення цього показника в тканинах коріння чутливої лінії під дією ВД і сумісної дії ВД та ТШ. Саме ця частина паростків відчуває найбільший тиск стрес-факторів. У тканинах коріння стійкої лінії спостерігається тенденція до збільшення цього показника у випадку сумісної дії стресорів. Щодо надземної частини рослин, то в ній здебільшого спостерігається зворотне явище, що свідчить про перерозподіл дисахаридів у рослині в умовах дії

стресу. Згідно з літературними даними цукри беруть участь в осморегуляції рослин. Ріст концентрації даних речовин за умов стресу в літературі розглядається як захисна реакція рослин для підвищення осмотичного потенціалу [13, 14], котрий знижується за умов дії різноманітних стресових агентів [15].

Таблиця 3

Вміст дисахаридів у паростках ліній кукурудзи під впливом стрес-факторів, % від сухої речовини

Лінії	Об'єкти дослідження	Варіанти досліду			
		Контроль	ВД	ТШ	ВД + ТШ
Стійка лінія Од329зМ	Ендосперм	0,35±0,01	0,25±0,01*	0,34±0,01	0,34±0,01
	Надземні органи	10,84±0,32	8,87±0,26*	7,57±0,22*	13,75±0,40*
	Коріння	7,45±0,22	6,59±0,19	8,75±0,26	7,97±0,22
Чутлива Лінія См7SLзМ	Ендосперм	0,37±0,01	0,34±0,01	0,66±0,02*	0,51±0,02*
	Надземні органи	7,94±0,23	11,14±0,32*	11,50±0,33*	12,25±0,36*
	Коріння	9,59±0,28	6,34±0,19*	10,68±0,31	8,32±0,25*

Примітка: * $p<0,05$

Висновки

- Під впливом дії ВД і сумісної дії ВД та ТШ у тканинах паростків стійкої лінії кукурудзи знижується активність амілази.
- Підвищений вміст редукуючих цукрів в тканинах стійкої лінії в умовах сумісної дії ВД та ТШ свідчить про адаптивну реакцію рослин на дію стресових факторів.

Література

- Мусиенко Н. Н., Славный П. С. Роль нуклеиновых кислот в адаптации растений к высокой температуре // Вопросы физиологии, биохимии, цитологии и флоры Украины. — Киев: Наук. Думка. — 1974. — С. 112–114.
- Моргун В. В., Григорюк І. П. Наукові напрямки досліджень в галузі фізіології водного режиму та посухостійкості рослин в Україні // Актуальні проблеми фізіології водного режиму та посухостійкості рослин: Зб. наук. пр. — К.: Ін-т фізіології рослин і генетики. — 1997. — С. 12–20.
- Тарчевский И. А. Сигнальные системы клеток растений. — М.: Наука. — 2002. — 294 с.
- Dunn G. A. Model for Starch Breakdown in Higher Plants // Phytochemistry. — 1974. — V. 13. — P. 1341–1346.
- Келес Ю., Онсел И. Рост и содержание ряда растворимых метаболитов у двух видов пшеницы, подвергнутых совместному действию нескольких стресс-факторов // Физиология растений. — 2004. — 51, № 2. — С. 228–233.
- Пшибитко Н. Л., Калитухо Л. Н., Волкова Е. В., Кабашникова Л. Ф. Роль сахаров в адаптации фотосинтетического аппарата к стрессовым факторам // Физиология и биохимия культур растений. — 2003. — 35, № 4. — С. 330–341.

Метаболізм вуглеводів у тканинах проростків

7. Кафи М., Стюарт В. С., Борланд А. М. Содержание углеводов и пролина в листьях, корнях и апексах сортов пшеницы, устойчивых и чувствительных к засолению // Физиология растений. — 2003. — 50, № 2. — С. 174–182.
8. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Яроши Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. — Л.: Агропромиздат. — 1987. — 430 с., ил. — С. 54–57.
9. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Fan A. Z., Randol R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193. — P. 265–275.
10. Калинин Ф. Л., Ястремович Н. И. Колориметрическое определение моно- и дисахаролов, белкового и небелкового азота, фосфора и калия в одной навеске растительного материала. Вопросы обмена веществ сельскохозяйственных растений. — Киев.: Изд-во акад. Наук УССР. — 1953. — С 105–110.
11. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Высш. Школа. — 1967. — 326 с.
12. Loreti E., Alpi A., Perata P. Glucose and Disaccharide-Sensing Mechanisms Modulate the Expression of ?-amylase in Barley Embryos // Plant Physiol. — 2000. — V. 123. — P. 939–948.
13. Франко О. Л., Мело Ф. Р. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс // Физиология растений. — 2000. — 47, № 1. — С. 152–159.
14. Buleon A., Colonna P., Planchot V., Ball S. Starch granules: structure and biosynthesis // Int. J. Biol. Macromol. — 1998. — 23, № 1. — P. 85–112.
15. Lichtenhaller H. K. The stress concept in plants: An introduction // Stress of life: From molecules to man. — 1998. — V. 851. — P. 187–198.

**О. В. Тихонова¹, О. О. Молодченкова², В. Г. Адамовская²,
С. А. Петров¹.**

¹ Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина. Тел.: (0482) 68-78-75

² Селекционно-генетический институт — Национальний центр семеноведения
и сортознания Украинской академии аграрных наук, лаборатория биохи-
мии и физиологии растений,
Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина. Тел.: 39-54-73

МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ В ТКАНЯХ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ВОДНОГО И ТЕПЛОВОГО СТРЕСС-ФАКТОРОВ

Резюме

Исследованы изменения в амилолитической активности и содержании редуцирующих сахаров в тканях проростков кукурузы под влиянием водного дефицита, теплового шока и их сочетания. Показано, что в тканях проростков устойчивой линии активность амилазы снижается под влиянием ВД и совместного действия стрессоров ВД та ТШ. Повышенное содержание моно- и дисахаролов в тканях устойчивой линии свидетельствует об адаптивном характере реакции проростков на действие стрессоров.

Ключевые слова: кукуруза, амилаза, моносахарины, дисахарины, стресс.

O. V. Tichonova¹, O. O. Molodchencova², V. G. Adamovskaya²,

S. A. Petrov¹

¹ Odessa National I.I. Mechnicov University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine. Tel.: (0482) 68-78-75

² Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar
Investigation Ukrainian Academy of Agricultural Sciences, Laboratory of Plant
Biochemistry and Physiology,
Ovidiopolska road, 3, Odessa, 65036, Ukraine. Tel.: 39-54-73

**CARBOHYDRATE METABOLISM IN MAIZE SEEDLINGS TISSUES
UNDER THE INFLUENCE OF WATER AND HEAT STRESS-
FACTORS**

Summary

The changes in amylase activity and the content of carbohydrates in maize seedlings tissues under the influence of water deficit, heat shock and their combination were studied. It was shown that in maize seedlings tissues of resistant line the amylase activity decreased in response to water deficit and combined water deficit and heat shock stress. The high content of saccharides in tissues of resistant line tells in favour of the adaptive character of seedlings reaction on the stress action.

Keywords: Zea mays L., amylase, monosaccharides, disaccharides, stress.