

УДК 581.19:577.156

О. В. Тихонова¹, асп., **О. О. Молодченкова**², канд. біол. наук,
В. Г. Адамовська², канд. с/х. наук, **С. А. Петров**¹, д-р біол. наук, проф.

¹ Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна. Тел.: (0482) 687875

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

МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ У ЗЕРНІ КУКУРУДЗИ ПРИ ЙОГО ПРОРОСТАННІ ЗА УМОВ ВОДЯНОГО ДЕФІЦИТУ

Досліджено зміни амілолітичної активності та вмісту редуруючих цукрів у зерні кукурудзи (*Zea mays* L.) при проростанні за умов водяного дефіциту (ВД). Показано, що у зерні стійкої лінії зміни активності амілази відбуваються раніше, ніж у чутливої лінії, що пояснюється її пристосувально-захисними механізмами. Зміни вмісту моно- та дисахаридів у стійкої лінії віддзеркалюють її адаптивні властивості.

Ключові слова: кукурудза, проростання, амілаза, моносахариди, дисахариди, водяний дефіцит.

Проростання насіння — один із важливих етапів онтогенезу вищих рослин, який характеризується відновленням після спокою метаболічної активності та ростових процесів у органах зародка і потребує високого рівня водозабезпечення [1].

Метаболічні зміни за умов водяного дефіциту (ВД) на перших стадіях проростання регулюються пристосувально-захисними механізмами і потребують підвищених витрат енергії [2, 3]. Активація гідролітичних ферментів, в т. ч. амілази, призводить до накопичення розчинних вуглеводів, що є субстратами для аеробного гліколізу та дихання — процесів, що забезпечують тканини зародка необхідною енергією [4].

Згідно з літературними даними [5, 6, 7] характер біохімічних реакцій у відмінних за стійкістю генотипів дуже подібний, проте відмінності можуть полягати у ступені відхилень метаболізму від норми, у швидкості та глибині перебудови його в умовах стресу.

Мета даного дослідження — з'ясувати зміни амілолітичної активності та вмісту редуруючих цукрів в процесі проростання зернівок кукурудзи за умов водяного стресу.

Матеріали і методи

Дослідження провадили на насінні лінії кукурудзи (*Zea mays* L.), які відрізнялися за ознакою посухостійкості (стійка лінія — Од329зМ, чутлива лінія — См7SL зМ).

У досліджах використовували неушкоджені зернівки кукурудзи у стані спокою та після 12-годинного набубнявіння (умовно 0 год. пророщування), які у подальшому пророщували на фільтрувальному папері у термостаті при температурі 25 °С. Для відтворення водяного дефіциту набубнявілі зернівки розкладали на фільтрувальному папері, зволоженому 10% ПЕГ-12000 [8, 9]. Зернівки контрольного варіанту впродовж дослідів пророщували на фільтрувальному папері, зволоженому дистильованою водою. По закінченні експозиції відпрепаровані ендосперм та зародок разом із щитком заморожували при -70 °С.

Амілазну активність визначали за методом Вольгемута [10]. Питому активність обчислювали в нкат/мг білка. Вміст білка визначали за методом Lowry [11].

Вміст редуруючих цукрів визначали за методом Калініна Ф. Л. і Ястрембович Н. І. [12] та перераховували у відсотках від сухої речовини.

Статистичну значимість відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерія Ст'юдента [13].

Результати та їх обговорення

При дослідженні амілазної активності виявилось, що в ендоспермі набубнявілого насіння чутливої лінії відбувається 30-кратне підвищення цієї активності у порівнянні з сухим насінням (табл. 1). У стійкої лінії її підвищення досягає 60-ти разів (табл. 2). Після початку дії ВД амілазна активність в ендоспермі чутливої лінії підвищується ще в 2,5 рази, а у стійкої — в 4,5 рази.

Таблиця 1

Амілазна активність у зерні чутливої лінії кукурудзи CM7SL3M при його проростанні за умов водяного дефіциту, нкат/мг білка

Умови дослідів	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	2,42 ± 0,07	74,81 ± 2,24	186,0 ± 5,6	365,2 ± 11,0	676,0 ± 20,3	267,0 ± 8,0	149,8 ± 4,5
В.Д.			217,5 ± 6,5*	312,2 ± 9,4*	470,5 ± 14,1*	480,6 ± 14,4*	246,4 ± 7,4*
	Зародок + щиток, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,32 ± 0,01	6,36 ± 0,19	12,07 ± 0,36
В.Д.			0,21 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,25 ± 0,01*	1,89 ± 0,06*	11,61 ± 0,35

Примітка: * — $p < 0,05$

У подальшому зростання активності продовжується у обох ліній до 7,5 години проростання зерна, після чого швидко знижується. У подальші строки проростання зерна, за раніше отриманими даними [14], амілазна активність продовжує спадати і на 3-ю добу досягає рівня активності в набубнявілому насінні.

Таблиця 2

Амілазна активність у зерні стійкої лінії кукурудзи Од329зМ при його проростанні за умов водяного дефіциту, нкат/мг білка

Умови досліджу	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	1,06 ± 0,03	64,07 ± 1,92	295,7 ± 8,9	272,5 ± 8,2	466,0 ± 14,0	339,3 ± 10,2	153,9 ± 4,6
В.Д.			161,2 ± 4,8*	414,5 ± 12,4*	697,1 ± 20,9*	302,4 ± 9,1*	189,3 ± 5,7*
	Зародок + щиток, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,08 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,31 ± 0,01	13,44 ± 0,40	13,62 ± 0,41
В.Д.			0,28 ± 0,01*	0,33 ± 0,01*	0,26 ± 0,01*	3,00 ± 0,09*	8,60 ± 0,26*

Примітка: * — $p < 0,05$

Рівень амілазної активності в решті зернівки контрольного варіанту був незначним відносно ендосперму, проте після 24-х годин проростання зерна спостерігали значне її збільшення в обох ліній (за рахунок щитка), що припадає на початок росту розтягненням зародка.

За умов водяного дефіциту загальна картина змін амілолітичної активності в обох ліній була дуже подібною. Проте у стійкої лінії спостерігали підвищення активності амілази у зародку вже на другу годину, тоді як у чутливої лінії цього підвищення не відбувалося, і навіть спостерігали зниження ферментативної активності у термін 7,5 год. В ендоспермі зміни амілазної активності майже повторюються: у стійкої лінії спостерігали її підвищення у термін 7,5 год., в той час як у чутливої лінії дослідний варіант перевищує контрольний лише на 24 годину пророщування зерна і стає нижчим за контрольний рівень на 48 годину. Таку затримку в розвитку амілолітичної реакції можна пояснити впливом стресового чинника на насіння.

Щодо загальних закономірностей динаміки вмісту цукрів у проростаючому насінні, то було встановлено, що за ВД спочатку спостерігається зниження вмісту моносахаридів (табл. 3, 4) у частині зернівки, позначеній нами як (зародок + щиток), що може бути пов'язано зі збільшенням інтенсивності дихання на початку дії ВД. Одночасно спостерігали підвищений вміст моносахаридів в ендоспермі.

Збереження низького рівня моносахаридів у зародку та щитку стійкої лінії на другу годину досліджу можна пояснити інтенсивним використанням цих сполук у метаболізмі зародка. Водночас частина моносахаридів могла переходити у склад дисахаридів, що підтверджується зростанням вмісту останніх (табл. 6).

Поступове зменшення вмісту моносахаридів в ендоспермі (у стійкої лінії на 7,5 годину проростання, а у чутливої — на 24 годину) свідчить про їх транспорт із ендосперму до зародка.

У термін 24 год. дослідний рівень моно- та дисахаридів у зернівці стійкої лінії перевищує контрольний, на відміну від чутливої лінії, де спостерігали зворотну реакцію.

Таблиця 3

Вміст моносахаридів у зерні чутливої лінії кукурудзи CM7SLзМ при його проростанні за умов водяного дефіциту, % від сухої речовини

Умови досліджу	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,011 ±0,001	0,0013 ±0,0001	0,0013 ±0,0001	0,014 ±0,001	0,026 ±0,001	0,242 ±0,013	1,94 ±0,09
В.Д.			0,0092 ±0,0005*	0,026 ±0,001*	0,027 ±0,001	0,029 ±0,001*	0,40 ±0,02*
	Зародок + щиток, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,055 ±0,002	0,091 ±0,004	0,1054 ±0,0050	0,060 ±0,003	0,054 ±0,002	0,239 ±0,0122	0,85 ±0,04
В.Д.			0,0569 ±0,0020*	0,050 ±0,002*	0,062 ±0,003	0,090 ±0,004*	0,26 ±0,01*

Примітка: * — $p < 0,05$

Таблиця 4

Вміст моносахаридів у зерні стійкої лінії кукурудзи Од329зМ при його проростанні за умов водяного дефіциту, % від сухої речовини

Умови досліджу	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,029 ±0,001	0,0052 ±0,0002	0,008 ±0,001	0,029 ±0,001	0,020 ±0,001	0,124 ±0,006	3,13 ±0,16
В.Д.			0,043 ±0,002*	0,035 ±0,002*	0,013 ±0,001*	0,324 ±0,016*	0,15 ±0,01*
	Зародок + щиток, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,065 ±0,003	0,057 ±0,002	0,020 ±0,001	0,080 ±0,004	0,125 ±0,006	0,099 ±0,005	1,55 ±0,08
В.Д.			0,003 ±0,0002*	0,048 ±0,002*	0,118 ±0,006	0,175 ±0,009*	0,54 ±0,03*

Примітка: * — $p < 0,05$

Внаслідок тривалої дії ВД спостерігали зменшення кількості моносахаридів в зернівці (табл. 3, 4), та дисахаридів (табл. 5, 6) в ендоспермі досліджуваних ліній. Наприкінці дослідження вміст дисахаридів в сукупності зародок + щиток дещо перевищував контрольний рівень цих сполук в зерні обох ліній (табл. 5, 6).

Як вже зазначалося [14], ріст концентрації цукрів, а саме дисахаридів як менш метаболічно-активних речовин, може бути захисною реакцією рослин на водяний дефіцит як стресовий чинник [15, 16].

Таблиця 5

Вміст дисахаридів у зерні чутливої лінії кукурудзи CM7SL3M при його проростанні за умов водяного дефіциту, % від сухої речовини

Умови дослідів	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,068 ±0,003	0,137 ±0,007	0,143 ± 0,007	0,136 ± 0,007	0,128 ± 0,006	0,27 ±0,01	0,61 ± 0,03
В.Д.			0,131 ± 0,007	0,126 ± 0,006	0,199 ± 0,010*	0,13 ± 0,01*	0,39 ± 0,02*
Умови дослідів	Зародок + щиток, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	2,034 ±0,102	2,387 ±0,119	1,862 ± 0,095	1,753 ± 0,088	2,504 ± 0,125	1,18 ± 0,06	2,16 ± 0,11
В.Д.			1,851 ± 0,093	1,437 ± 0,072*	2,190 ± 0,110*	0,88 ± 0,04*	2,41 ± 0,13

Примітка: * — $p < 0,05$

Таблиця 6

Вміст дисахаридів в зерні стійкої лінії кукурудзи Од329зМ при його проростанні за умов водяного дефіциту, % від сухої речовини

Умови дослідів	Ендосперм, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	0,030 ±0,002	0,192 ±0,010	0,133 ± 0,007	0,133 ± 0,007	0,217 ± 0,011	0,26 ± 0,01	1,03 ± 0,05
В.Д.			0,167 ± 0,01*	0,128 ± 0,007	0,175 ± 0,010*	0,31 ± 0,02*	0,61 ± 0,03*
Умови дослідів	Зародок + щиток, час пророщування зерна						
	Спокій	0 год	2 год	4 год	7,5 год	24 год	48 год
Контроль	2,033 ±0,103	2,289 ±0,120	1,082 ± 0,055	1,496 ± 0,075	2,369 ± 0,125	1,05 ± 0,05	1,92 ± 0,10
В.Д.			2,048 ± 0,10*	1,964 ± 0,10*	2,101 ± 0,110	1,73 ± 0,09*	2,24 ± 0,11

Примітка: * — $p < 0,05$

Висновки

1. У стійкої лінії кукурудзи зміни амілазної активності в проростаючому зерні відбуваються раніше, ніж у чутливої лінії, що збільшує пристосувально-захисний потенціал стійких рослин.

2. В насінні стійкої лінії, яке проростає в умовах низької вологості, істотно зростає вміст вільних моно- та дисахаридів, що є захисною реакцією за умов водяного дефіциту.

Література

1. Бабенко Л. М., Мартин Г. И., Мусатенко Л. И. и др. Структурно-функціональні особливості проростання насіння квасолі // Физиология и биохимия культ. Растений. — 2003. — 53, № 2. — С. 138–143.
2. Моргул 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.
3. Тарчевский И. А. Сигнальные системы клеток растений. — М.: Наука. — 2002. — 294 с.
4. Dunn G. A. Model for Starch Breakdown in Higher Plants // Phytochemistry. — 1974. — V. 13. — P. 1341–1346.
5. Генетические ресурсы и селекция на устойчивость к болезням и абиотическим факторам среды. Материалы IX конгресса ЕУКАРПИИ (Ленинград, 16–20 сентября, 1980г). — Ленинград — 1981. — С. 13.
6. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин: Підручник. — К.: Фітоцентр, 2001. — С. 337–339.
7. Генкель П. А. О состоянии и направлении работ по физиологии жаро- и засухоустойчивости растений. — В кн.: Проблемы засухоустойчивости растений. — М. — 1978.
8. Ли М., Ван Г., Лин Ц. Кальций способствует адаптации культивируемых клеток солодки к водному стрессу, индуцированному полиэтиленгликолем // Физиология растений. — 2004. — Т. 51, № 4. — С. 575–581.
9. Handa A. K., Bressan R. A., Handa S. et al. Clonal Variation for Tolerans to Polyethylene Glycol-Induced Water Stress in Cultured Tomato Cells // Plant Physiol. — 1983. — V. 72. — P. 645–653.
10. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. — Л.: Агропромиздат. — 1987. — 430 с., ил. — С. 54–57.
11. 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.
12. Калинин Ф. Л., Ястрембович Н. И. Колориметрическое определение моно- и дисахаров, 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.
13. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Выш. Школа. — 1967. — 326 с.
14. Тихонова О. В., Молодченкова О. О., Адамовська В. Г., Петров С. А. Метаболізм вуглеводів у тканинах паростків кукурудзи під впливом водяного та теплового стрес-факторів // Вістник ОНУ. — 2005. — 1, № 10. — С. 33–38.
15. Франко О. Л., Мело Ф. Р. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс // Физиология растений. — 2000. — Т. 47, № 1. — С. 152–159.
16. Buleon A., Colonna P., Planchot V., Ball S. Starch granules: structure and biosintesis // Int. J. Biol. Macromol. — 1998. — V. 23, № 1. — P. 85–112.

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) 687875

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

МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ В ЗЕРНЕ КУКУРУЗЫ ПРИ ЕГО ПРОРОСТАНИИ В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА

Резюме

Исследованы изменения в амилалитической активности и содержании редуцирующих сахаров в зерне кукурузы (*Zea mays* L.) при проростании в условиях водного дефицита. Показано, что в зерне устойчивой линии изменения в активности амилазы происходят раньше, что объясняется ее приспособительно-защитными механизмами. Изменения содержания моно- и дисахаров в тканях устойчивой линии отражают ее адаптивные свойства.

Ключевые слова: кукуруза, проростание, амилаза, моносахариды, дисахариды, водный дефицит.

¹ O. V. Tichonova, ² O. O. Molodchencova, ² V. G. Adamovskaya, ¹ S. A. Petrov

¹ Odessa National I.I. Mechnikov 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 CORN SEED TISSUES DURING GERMINATION UNDER THE INFLUENCE OF WATER DEFICIENCY

Summary

The changes in amylase activity and carbohydrates content in corn seed under the influence of water deficiency was studied. It was shown that in corn seed of resistant line the changes of amylase activity happened earlier. The content changes of saccharides in the tissues of resistant line tell in favour of the adaptive character of corn seed reaction under the water deficiency action.

Keywords: *Zea mays* L., germination, amylase, monosaccharides, disaccharides, water deficiency.