

"

Rossikhina G. S., Gluboka V. M.
Influence of the Frontier preparation on lipoxygenase activity in the maize grains during germination

УДК 581.1 : 632.112

Г. С. Россихіна, В. М. Глубока

*Дніпропетровський національний університет
Дніпропетровський державний хіміко-технологічний університет*

ВПЛИВ ФРОНТЬЄРУ НА АКТИВНІСТЬ ЛІПОКСИГЕНАЗИ ЗЕРНА КУКУРУДЗИ НА РАННІХ ЕТАПАХ ПРОРОЩУВАННЯ РОСЛИН

Досліджено зміни активності ліпоксигенази та інтенсивності процесів пероксидного окислення ліпідів за дії препарату фронт'єр у різних концентраціях при проростанні зерна кукурудзи. Встановлено взаємозв'язок між активністю ліпоксигенази та рівнем вмісту продуктів пероксидного окислення ліпідів – малонового діальдегіду в рослинних органах. Припускають, що стимуляція активності ліпоксигенази та швидка пероксидація ліпідів є загальною відповіддю на дію ксенобіотиків.

The change of lipoxygenase activity and intensity of lipid peroxidation process under action of different concentrations of the Frontier preparation during germination of the maize grain was investigated. The close correlation between lipoxygenase activity and the level of lipid peroxidation products content – malonic dialdehyde – in the plant organs were ascertained. It is supposed, that stimulation of lipoxygenase activity and fast lipid peroxidation is a common response of plants to the influence of xenobiotics.

Вступ

Серед сучасних проблем біології особливо важлива – реакції рослин на токсичну дію хімічних сполук. На цей час існує значна кількість досліджень із проблем адаптації рослин до гербіцидів, які висвітлюють структурні та метаболічні зміни, що

© Г. С. Россихіна, В. М. Глубока, 2007

140

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.
Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.
2007. 15(1).
ISSN 2310-0842 print ISSN 2312-301X online
www.ecology.dp.ua

відбуваються на різних рівнях фізіологічних процесів у рослинних організмах, але з'ясування їх механізмів потребує подальшого поглибленого вивчення [5; 6]. При взаємодії рослин із гербіцидами можуть утворюватися різні форми активного кисню (O_2 , HO , H_2O_2), що призводить до інтенсифікації пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) – однієї із швидких і неспецифічних реакцій клітин на дію будь-якого стресового чинника [8]. Активація ПОЛ призводить до структурно-функціональних і фізіологічно-біохімічних порушень у мембранах клітин. Безпосередню участь у процесах пероксидації беруть ферменти внутрішньоклітинної передачі інформації рослинних клітин – ліпоксигенази (ЛОГ).

Існує достатньо інформації, щоб вважати ліпоксигеназний шлях перетворення мембранних ліпідів самостійною сигнальною системою [7]. Дані ферменти беруть участь у становленні метаболізму при перетворенні поліненасичених жирних кислот [3], каталізують приєднання молекулярного кисню до одного з атомів вуглецю 1,3-дис,дис-пентадієнового радикала жирних кислот [1; 2; 4; 9]. Ліпоксигенази відіграють важливу роль у підтриманні гомеостазу та стійкості рослинних клітин до дії чинників навколишнього середовища. При цьому активність ензиму змінюється у відповідь як на абіотичні, так і біотичні стресори. Відомо, що механічне пошкодження [7; 19; 20], висока температура, дія озону [7; 16], еліситерів, що утворюються патогенними мікроорганізмами [7; 15], іонів кальцію [7; 18] підвищують активність ензиму, а низькі температури [7; 16], поліаміни [7; 17] – інгібують. Роль пероксидного окислення ліпідів і, зокрема, ліпоксигенази при визначенні чутливості рослин до гербіцидів є актуальною проблемою. Тому мета нашої роботи – виявити реакцію рослинного організму на вплив препарату фронт'єр у різних концентраціях за зміною активності ЛОГ та інтенсивності процесів пероксидного окислення ліпідів у зерні проростків кукурудзи.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкт досліджень – зерно 5–11-добових проростків кукурудзи гібриду Кадр 267 МВ. У дослідях використовували попередньо відібране за розміром та масою непошкоджене насіння, яке замочували на чотири години у дистильованій воді. Після цього зерно промивали розчином перманганату калію та пророщували дві доби в кюветах на фільтрувальному папері на розчинах із різними концентраціями препарату фронт'єр (5, 10, 50 та 100 мг/л) у термостаті. Контрольні рослини вирощували на дистильованій воді. Активність ліпоксигенази визначали за Н. А. Жеребцовим [9] та виражали в умовних од./хв. г-сирої маси. Ступінь пероксидації оцінювали за нагромадженням малонового діальдегіду (МДА), який визначали реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [12] та виражали в молях/г-сирої маси.

Результати та їх обговорення

Ліпоксигеназна активність значним чином залежить як від концентрації досліджуваного препарату, так і від терміну пророщування рослин (рис. 1). Хід кривих активності ензиму контрольного та дослідних зразків мав подібний характер.

Активація ліпоксигенази відбувається вже на 5-у добу онтогенезу та перевищує контроль при дії фронт'єру в концентрації 5 мг/л на 24 %, 10 мг/л – на 53 %, 50 мг/л – на 65 %, 100 мг/л – на 80 % ($p < 0,001$, $F = 338,23$, $F_{кр} = 3,06$). Максимуму ензиматична активність набувала на 7-у добу проростання рослинних об'єктів і перевищувала контроль на 15, 40, 52 та 60 % за дії вище наведених доз гербіцидного препарату ($p < 0,001$, $F = 299,55$, $F_{кр} = 3,06$). У подальшому, на 9-у та 11-у доби експерименту відбувається спад ферментативної активності. При цьому на 11-у добу онтогенезу між дослідом і контролем зафіксовані суттєві відмінності: рівень ліпоксигеназ-

ної активності перевищував контроль на 53, 84, 147 та 174 % відповідно за дії фронт'єру в концентраціях 5, 10, 50, 100 мг/л ($p < 0,001$, $F = 415,26$, $F_{кр} = 3,06$).

Відомо, що кінцевим продуктом розпаду перекисів поліненасичених жирних кислот є малоновий діальдегід [8]. Зміни вмісту малнового діальдегіду у відповідь на гербіцидний стрес, подібно варіюванням рівня активності ЛОГ, також залежали як від терміну пророщування, так і від концентрації фронт'єру (рис. 2).

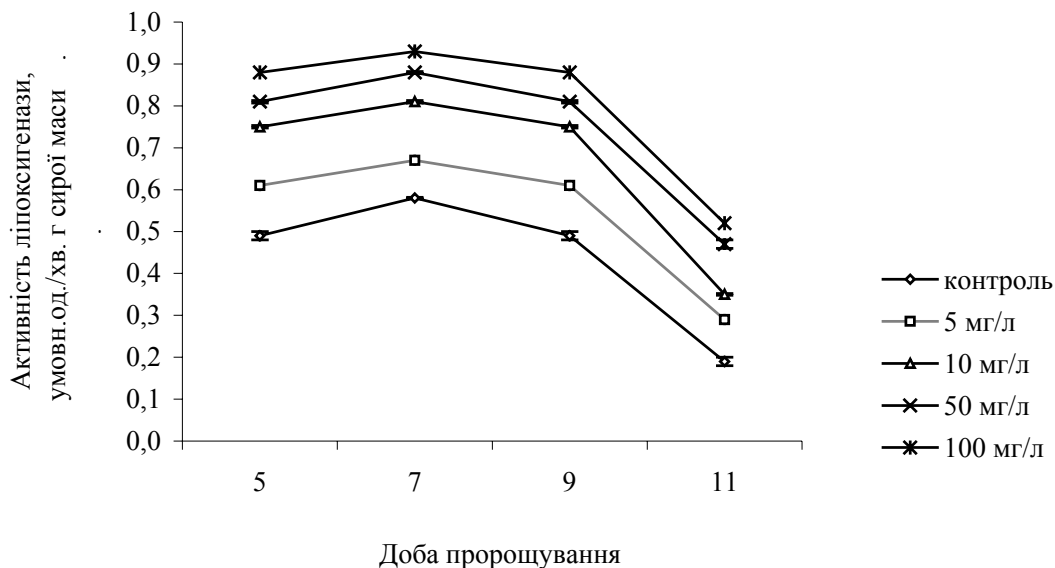


Рис. 1. Активність ліпоксигенази зерна кукурудзи за умов гербіцидного впливу

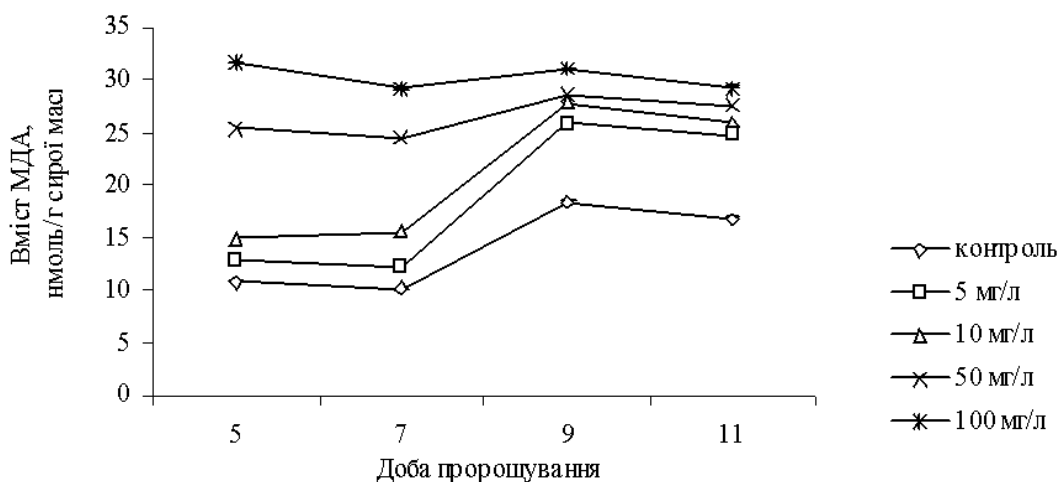


Рис. 2. Вміст малнового діальдегіду в зерні кукурудзи за гербіцидного впливу

При цьому загальний характер змін рівня МДА при дії гербіцидів у досліджуваних концентраціях подібний до змін у контрольному варіанті. Оскільки процес ініціювання та поширення ланцюгових реакцій, у ході яких з'являються продукти ПОЛ, швидкий, поява продуктів пероксидації відмічена вже на 5-у добу гербіцидного впливу. Вміст ТБК-активних продуктів перевищував контроль на 19, 38, 136 та 194 % відповідно при дії препарату у концентраціях 5, 10, 50 та 100 мг/л ($p < 0,001$, $F =$

7209,55, $F_{кр} = 3,06$). На 7-у добу впливу фронт'єру цей показник перевищував контроль відповідно на 21, 51, 141 та 185 % ($p < 0,001$, $F = 14348,21$, $F_{кр} = 3,06$). Пік концентрації маленового діальдегіду спостерігався на 9-у добу експерименту і дослід перевищував контроль на 40, 51, 55 та 68 % відповідно при дії гербіциду в дозах 5, 10, 50 та 100 мг/л ($p < 0,001$, $F = 3927,91$, $F_{кр} = 3,06$). Як видно з наведених даних, зростання рівня продуктів ПОЛ має прямо пропорційну залежність щодо підвищення дози досліджуваного ксенобіотика.

Між активністю ферменту ЛОГ та рівнем вмісту продукту ПОЛ – МДА нами встановлено тісний зв'язок, що підтверджується результатами кореляції ($r = 0,84$ (5-а доба), $r = 0,91$ (7-а доба), $r = 0,98$ (9-а доба), $r = 0,99$ (11-а доба)).

За Д. А. Закржевським зі співавторами [10], одна із відповідей організму на небажані впливи (неспецифічного адаптаційного синдрому) – закономірна зміна рівня ПОЛ і активності захисних систем. Численні дослідження на тваринах свідчать, що активація пероксидного окислення характерна для фази тривоги та супроводжується наростанням рівня ПОЛ, а продукти ПОЛ можуть виступати як первинні медіатори процесу [10].

Аналіз одержаних результатів свідчить про те, що молекули гербіциду здатні стимулювати активацію ЛОГ і сприяти, таким чином, утворенню у тканинах рослин вільних радикалів. Встановлено, що у часі досліджувані процеси розвивались не однаково. Активність ферменту зростала на 7-у, а концентрація МДА – на 9-у добу пророщування рослинних об'єктів. Тобто спочатку за дії гербіциду відбувалась активація ліпоксигенази, у результаті чого утворювались у надлишку вільні радикали, а потім, як наслідок, – інтенсифікувались процеси ПОЛ. Поступове уповільнення процесу пероксидного окислення та зниження активності ЛОГ на 11-у добу експерименту вказує на перехід рослинного організму до стадії резистентності, можливо, за рахунок реалізації антиоксидантної відповіді, яка пов'язана з активацією або синтезом захисних ферментних систем (супероксиддисмутази, каталази, пероксидази), що було визначено нами раніше [13; 14].

Висновки

Стимуляція активності ЛОГ і швидка пероксидація ліпідів можуть розглядатися як загальна відповідь рослин на дію гербіцидів. Проведені дослідження виявили індукцію активності ЛОГ за дії гербіцидного препарату. При цьому активність ферменту перебуває під контролем з боку продуктів ліпоксигеназної реакції за принципом зворотного зв'язку. Не виключено, що активність ЛОГ може слугувати маркером розвитку системної індукованої стійкості у рослинних тканинах [11]. Очевидно, що подальші дослідження у цьому напрямку можуть дати важливі результати для прогнозування стійкості гібридів кукурудзи в умовах гербіцидного забруднення.

Бібліографічні посилання

1. **Активність** ліпоксигенази в растениях с индуцированной устойчивостью / Л. И. Ильинская, Е. А. Переходов, Г. И. Паленко и др. // Физиология растений. – 2000. – Т. 47, № 4. – С. 516–523.
2. **Бабенко Л. М.** Ліпоксигеназна активність в зародкових осях проростаючого насіння квасолі / Л. М. Бабенко, Л. І. Мусатенко, О. В. Харченко // Доповіді НАНУ. – 2003. – № 3. – С. 170–173.
3. **Барсуков В. И.** Изменение активности липоксигеназы в процессе стратификации семян яблони / В. И. Барсуков, А. М. Беккер, М. Г. Николаева // Физиология и биохимия культурных растений. – 1985. – Т. 17, № 2. – С. 186–188.

4. **Вінниченко О. М.** Захисні механізми рослин за дії гербіцидів // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. В. Гнатюка. Біологія. – 2002. – № 3 (18). – С. 90–92.
5. **Вінниченко О. М.** Метаболічна адаптація сільськогосподарських культур до дії гербіцидів // Український біохімічний журнал. – 2002. – № 4 б (додаток). – С. 118–119.
6. **Гречки А. Н.** Липоксигеназная сигнальная система / А. Н. Гречки, И. А. Тарчевский // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 1. – С. 132–142.
7. **Ершова А. Н.** Влияние эпибрасинолида на процессы перекисного окисления липидов *Pisum sativum* в нормальных условиях и при кислородном стрессе / А. Н. Ершова, В. А. Хрипач // Физиология растений. – 1996. – Т. 43, № 6. – С. 870–873.
8. **Жеребцов Н. А.** Идентификация каталитически активных групп липоксигеназы зародышей семян пшеницы / Н. А. Жеребцов, Т. Н. Попова, Т. В. Зяблова // Прикладная биохимия и микробиология. – 2001. – Т. 37, № 2. – С. 164–169.
9. **Ліпоксигеназна активність і субструктура клітин зародкової осі при проростанні насіння квасолі** / Л. М. Бабенко, Г. Г. Мартин, Л. І. Мусатенко та ін. // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. В. Гнатюка. Біологія. – 2002. – № 3 (18). – С. 69–74.
10. **Окислительные и ростовые процессы в корнях и листьях высших растений при различной доступности кислорода в почве** / Д. А. Закржевский, Т. И. Балахнина, В. И. Степневский и др. // Физиология растений. – 1995. – Т. 42, № 2. – С. 272–280.
11. **Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система защиты в хлоропластах гороха при тепловом шоке** / Л. Н. Курганова, А. П. Веселов, Т. А. Гончаров и др. // Физиология растений. – 1997. – Т. 44, № 5. – С. 725–730.
12. **Продукты липоксигеназного окисления полевых кислот, индуцирующие фитопфтороустойчивость клубней картофеля** / С. А. Авдюшко, Л. И. Чалова, О. Л. Озерецковская и др. // Биохимия. – 1987. – Т. 296, № 4. – С. 1012–1014.
13. **Россихіна Г. С.** Післядія ауксиноподібних препаратів на процеси перекисного окислення та функціонування антиоксидантного захисту в проростках кукурудзи // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія біологічна. – 2004. – Вип. 14. – С. 127–130.
14. **Россихіна Г. С.** Вплив гербіцидної обробки на ліпопероксидацію і системи її регулювання в зерні кукурудзи / Г. С. Россихіна, О. М. Вінниченко // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2004. – Вип. 37. – С. 227–231.
15. **Chandra S.** Activation of phospholipase A by plant defense elicitors / S. Chandra, P. S. Heinstein, P. S. Low // Plant Physiol. – 1996. – Vol. 110. – P. 979–986.
16. **Lipoxygenase Activity associated to isolated soybean plasma membranes** / F. Macri, E. Braidot, E. Petrusa, A. Vianello // Biochim. Biophys. Acta. – 1994. – Vol. 1215. – P. 109–114.
17. **Maccarrone M.** Thermal injury and ozone stress affect soybean lipoxygenases expression / M. Maccarrone, G. A. Veldink, F. G. Vliegenhart // FEBS Lett. – 1992. – Vol. 309. – P. 225–230.
18. **Ozone stress modulates amine oxidase and lipoxygenase expression in lentil (*Lens culinatis*) seedlings** / M. Maccarrone, G. A. Veldink, F. G. Vliegenhart, A. Finazzi Argo // FEBS Lett. – 1997. – Vol. 408. – P. 241–244.
19. **Rosahl S.** Lipoxygenases in plants – their role in development and stress response // Z. Naturforsch. Bio. Sci. – 1996. – Vol. 51. – P. 123–138.
20. **Sembdner G.** The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonates / G. Sembdner, B. Parthier // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1993. – Vol. 44. – P. 569–589.

Надійшла до редколегії 15.01.2007