

УДК 581.1+633.15

Г. С. Россихіна, В. С. Більчук, В. В. Лашко, О. М. Вінниченко

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ВПЛИВ СТИМУЛЯТОРІВ РОСТУ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АЗОТНОГО МЕТАБОЛІЗМУ КУКУРУДЗИ

Досліджено вплив стимуляторів росту «Епін-Екстра», «Вимпел» і «Агат» на активність амінотрансфераз проростків середньоранніх гібридів кукурудзи. Обробка насіння стимуляторами росту сприяє підвищенню активності аспартат- та аланінамінотрансфераз і накопиченню легкорозчинних білків у різних органах на ранніх етапах росту. На фоні чіткої тенденції до підвищення активності амінотрансфераз під впливом стимуляторів росту виявлено і суто сортоспецифічні реакції. Зареєстровано існування кореляційного зв'язку ($r = 0,88-0,99$) ферментативної активності ензимів у досліджених частинах проростків кукурудзи за дії регуляторів росту.

A. S. Rossikhina, V. S. Bilchuk, V. V. Lashko, A. N. Vinnichenko

Dnepropetrovsk National University im. Oles Honchar

ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АЗОТНОГО МЕТАБОЛИЗМА КУКУРУЗЫ

Исследовано влияние стимуляторов роста «Эпин-Экстра», «Вымпел» и «Агат» на активность аминотрансфераз проростков среднеранних гибридов кукурузы. Обработка семян стимуляторами роста способствует повышению активности аспартат- и аланинаминотрансфераз и накоплению легко растворимых белков на ранних этапах роста. На фоне четкой тенденции повышения активности аминотрансфераз под влиянием стимуляторов роста выявлены и сортоспецифические реакции. Зарегистрировано существование корреляционной связи ($r = 0,88-0,99$) ферментативной активности энзима в исследуемых частях проростков кукурузы при действии регуляторов роста.

A. S. Rossikhina, V. S. Bilchuk, V. V. Lashko, A. N. Vinnichenko

Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University

INFLUENCE OF GROWTH-PROMOTING FACTORS ON ACTIVITY OF NITRIC METABOLISM ENZYMES IN MAIZE

The influence of growth stimulators «Appin-extra», «Vympel» and «Agab» on the activity of aminotransferases in the seedlings of early-mid ripening hybrids of maize has been studied. It has been established that growth-stimulating processing causes the rise of aspartat aminotransferase and alanin aminotransferase activities and accumulation of easily soluble proteins at the early stages of growth. Against the background of clear tendency of the aminotransferases activities increase under the influence of growth-promoting factors the cultivar-specific reactions have been revealed. It has been registered the existence of a correlation ($r = 0.88-0.99$) between enzymatic activity of aminotransferases and growth stimulation in the maize seedlings.

Вступ

На даний момент інтерес до стимуляторів росту зумовлений широким спектром їх дії на рослини [10], здатністю компенсувати недоліки сортів і гібридів, можливістю

спрямовано регулювати окремі етапи розвитку з метою мобілізації потенційних можливостей рослинного організму, підвищення врожайності та якості сільськогосподарської продукції [8]. За дії будь-яких фізіологічно активних сполук значну чутливість проявляє білковий обмін рослин, зміни в якому пов'язані з ферментами переамінування [5; 6]. Ці ензими беруть безпосередню участь у синтезі амінокислот і протеїну, а також підтриманні білкового та енергетичного обмінів. Амінотрансферази відіграють значну роль у новоутворенні амінокислот у насінні, що проростає. Важливі ферменти переамінування – аспаратамінотрансфераза (АСТ) (КФ 2.6.1.1) та аланінамінотрансфераза (АЛТ) (КФ 2.6.1.2), оскільки реакції, які вони каталізують, ідуть за участі аспарагінової, глутамінової кислот, їх амідів і аланіну [11]. Вміст амінокислот у насінні, що проростає, залежить як від інтенсивності гідролізу запасних речовин, так і від включення їх до обміну, особливо в реакціях, що викликають синтез білків [3]. Дослідженню впливу різних чинників на активність трансаміназ присвячено велику кількість робіт [2–4; 7; 9; 11], при цьому кількість праць, які б розширювали уявлення про функціонування амінотрансфераз за дії регуляторів росту, обмежена.

У зв'язку з цим мета роботи – оцінити вплив регуляторів росту «Епін-Екстра», «Вимпел» і «Агат» на активність АСТ та АЛТ проростків кукурудзи та взаємозв'язок між процесом накопичення протеїну та каталітичною активністю амінотрансфераз.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на проростках кукурудзи середньоранніх гібридів Хмельницький 280СВ та Оржиця 237МВ, які відрізнялись за стійкістю за 9-бальною шкалою. Як стимулятори росту використовували препарати, що належать до різних класів. «Епін-Екстра» за дією схожий на фітогормони рослин. Це регулятор і адаптоген широкого спектра дії, синтезований аналог природної речовини. До складу препарату «Вимпел» входить унікальний бурштиново-гуматний хелатний комплекс, який містить усі необхідні рослині мікроелементи. Його присутність посилює коренеутворення та поліпшує живлення. Мікробіологічний препарат «Агат-25К» містить визначений штам бактерій і продуктів їх метаболізму, одночасно є і фунгіцидом, і регулятором росту рослин. Зазначені препарати – активні антиоксиданти, що захищають рослинний організм від стресу.

Перед висаджуванням насіння замочували в розчинах регуляторів росту «Епін-Екстра», «Вимпел» і «Агат» згідно з інструкцією щодо використання впродовж 4 годин. Контрольне насіння замочували у воді. Надалі насіння висаджували у воду в рулонах фільтрувального паперу з додаванням поживного розчину Кнопа. Активність аланінамінотрансферази в листках та коренях 5, 7 та 9-добових проростків визначали методом [12], принцип якого полягає в тому, що в результаті реакцій, які каталізує АЛТ, утворюється піровиноградна кислота (ПВК), що дає із 2,4-динітрофенілгідразином у лужному середовищі забарвлену сполуку – гідразон. Перетворення щавлевої кислоти на ПВК у випадку визначення АСТ здійснювали за допомогою анілінцитрату [12]. Каталітичну активність виражали в нмоль пірувату/с·г наважки. Вміст білка визначали методом М. М. Bredford [13]. Повторюваність кожного дослідження – триразова. Результати опрацьовано статистично за допомогою пакета Statistica 6.0; розбіжності між вибірками вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Передпосівна обробка насіння кукурудзи регуляторами росту впливає на активність ферментів переамінування анатомічних частин проростків. За дії препаратів

«Вимпел» і «Агат» достовірно підвищення активності амінотрансфераз у проростках гібриду Хмельницький 280СВ зареєстровано на п'яту добу проростання (рис. 1, 2). У процесі розвитку рівень активності АСТ колеоптилів дослідних рослин перевищував контроль у середньому в 1,2 раза при застосуванні препарату «Вимпел» і в 1,3 раза за дії «Агату». У коренях проростків за дії досліджуваних стимуляторів цей показник упродовж експерименту збільшувався відносно контролю в 1,2 раза.

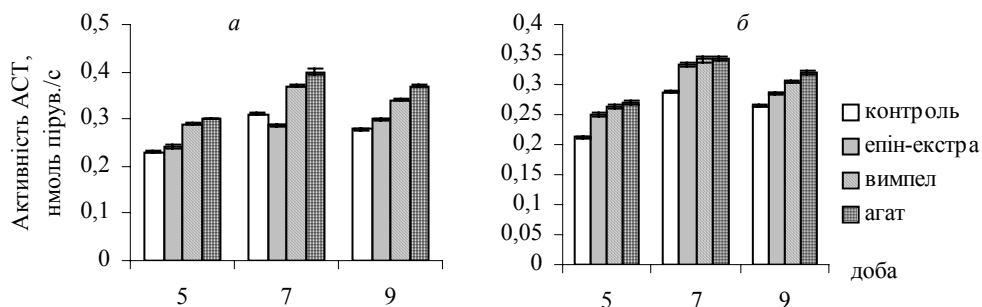


Рис. 1. Динаміка активності аспартатамінотрансферази в листках (а) і коренях (б) проростків кукурудзи гібриду Хмельницький 280СВ за передпосівної обробки насіння стимуляторами росту

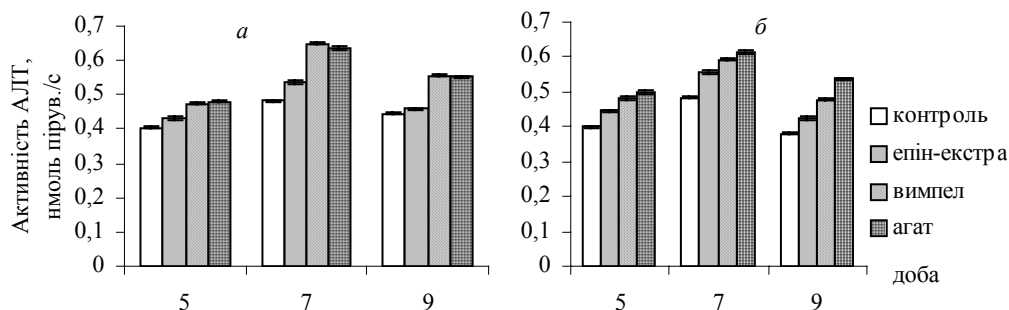


Рис. 2. Динаміка активності аланінамінотрансферази в листках (а) і коренях (б) проростків кукурудзи гібриду Хмельницький 280СВ за передпосівної обробки насіння стимуляторами росту

Передпосівна обробка насіння препаратом «Епін-Екстра» сприяла достовірному підвищенню активності ферменту тільки в коренях проростків від 10 до 20 % залежно від терміну проростання (див. рис. 1).

При аналізі динаміки змін активності АЛТ в аналогічних умовах дії стимуляторів установлені деякі розбіжності. Препарат «Епін-Екстра» сприяв підвищенню активності ферменту як у листках, так і в коренях, починаючи з п'ятої доби проростання. Максимальний рівень активності АЛТ у проростках зареєстровано на сьому добу проростання: він перевищував контрольні зразки в 1,1 раза в колеоптилях та в 1,2 раза в коренях (див. рис. 2).

Препарати «Вимпел» і «Агат» однаково стимулювали активність АЛТ, на відміну від процесу переамінування аспарагінової кислоти. У пагонах проростків загалом спостерігалась однакова тенденція впливу препаратів «Вимпел» і «Агат» на процес переамінування аланіну. Рівень активності АЛТ збільшувався у відповідь на дію цих стимуляторів протягом усього терміну проростання в 1,2–1,4 раза порівняно з контролем. У коренях загалом відмічена подібна закономірність, хоча рівень активності

АЛТ при використанні препарату «Агат» був дещо вищим, ніж за дії інших стимуляторів, і становив 0,62 нмоль піруват/с · г наважки на дев'яту добу (див. рис. 2).

Результати впливу передпосівної обробки зерна регуляторами росту на активність амінотрансфераз проростків кукурудзи гібриду Оржиця 237МВ наведено на рисунках 3 та 4. Анатомічні частини контрольних рослин даного гібриду мали вищий рівень активності АСТ та АЛТ порівняно з гібридом Хмельницький 280СВ. Виявлені особливості впливу стимуляторів на активність АСТ свідчать, що післядія препарату «Епін-Екстра» сприяла активізації процесу переамінування в пагонах кукурудзи цього гібриду. При цьому максимальне підвищення активності ензиму на 16 % зареєстровано на п'яту добу онтогенезу. Дія препаратів «Вимпел» і «Агат» викликала подібне зростання активності АСТ у пагонах. У п'ятидобових дослідних рослин активність ферменту перевищувала контроль відповідно в 1,25 та 1,29 раза. Із подальшим розвитком проростків активність АСТ збільшувалась в 1,31 та 1,34 раза на сьому добу, із деяким зниженням даного показника на дев'яту (в 1,23 та 1,27 раза) (див. рис. 3).

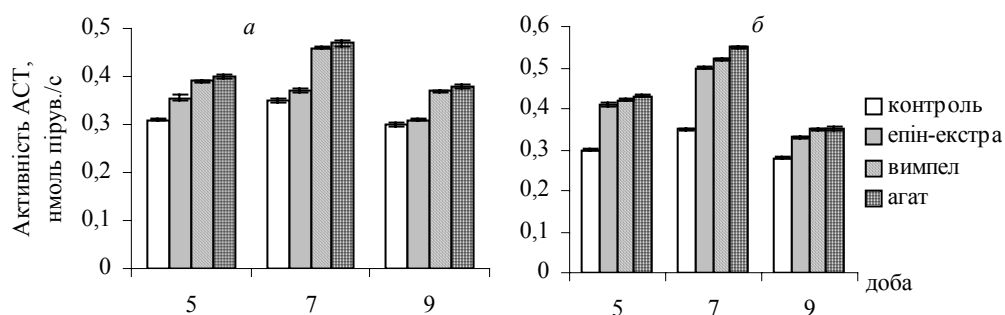


Рис. 3. Динаміка активності аспартатамінотрансферази в листках (а) і коренях (б) проростків кукурудзи гібриду Оржиця 237МВ за передпосівної обробки насіння стимуляторами росту

У коренях проростків гібриду Оржиця процес переамінування за участі аспартатамінотрансферази за дії стимуляторів тривав із більшою інтенсивністю, ніж у гібриду Хмельницький. З'ясовано, що рівень ферментативної активності на п'яту добу за дії всіх препаратів перевищував контроль в 1,40 раза. Найвища активність зафіксована в коренях семидобових проростків, які обробляли препаратом «Агат». Під час подальшого росту (дев'ята доба) активність АСТ коренів зменшувалась порівняно з семидобовими рослинами, але залишалась вищою, ніж у контрольних зразках, в 1,25 раза (за дії стимуляторів «Вимпел» і «Агат») (див. рис. 3).

Передпосівна обробка насіння гібриду Оржиця 237МВ регуляторами росту також стимулювала активність АЛТ листків і коренів (див. рис. 4). Ферментативна активність у листках п'ятидобових дослідних рослин перевищувала контрольні на 13 % за дії «Епін-Екстри», на 32 % – «Вимпела» та 20 % – «Агата». У семидобових проростків кукурудзи активність ферменту мала тенденцію до зростання відповідно на 18, 38 та 27 %. На дев'яту добу онтогенезу відмічено певне зниження активності, але її рівень достовірно перевищував контроль на 16 % («Епін-Екстра»), 26 % («Вимпел») та 44 % («Агат»).

У коренях проростків гібриду Оржиця 237МВ фіксували подібну тенденцію. У п'ятидобових рослин рівень активності аланінамінотрансферази достовірно перевищував контрольний на фоні обробки насіння препаратом «Епін-Екстра» в 1,10 раза, «Вимпел» – в 1,30 раза, «Агат» – в 1,20 раза. На сьому добу цей показник за дії всіх речовин помітно збільшувався відносно контролю в 1,30 раза. У дев'ятидобових ор-

ганізмів інтенсивність процесу переамінування дещо знижувалась порівняно з іншими стадіями розвитку, але перевищувала контроль від 12 до 20 % (див. рис. 4).

Процеси переамінування аспарагінової кислоти та аланіну з α -кетоглутаратом перебувають в певній залежності. Встановлено існування кореляційного зв'язку ферментативної активності АЛТ з активністю АСТ у досліджуваних частинах проростків кукурудзи за дії регуляторів росту, про що свідчать високі значення коефіцієнтів кореляції (0,88–0,99) при 95 % рівні надійності (рис. 5).

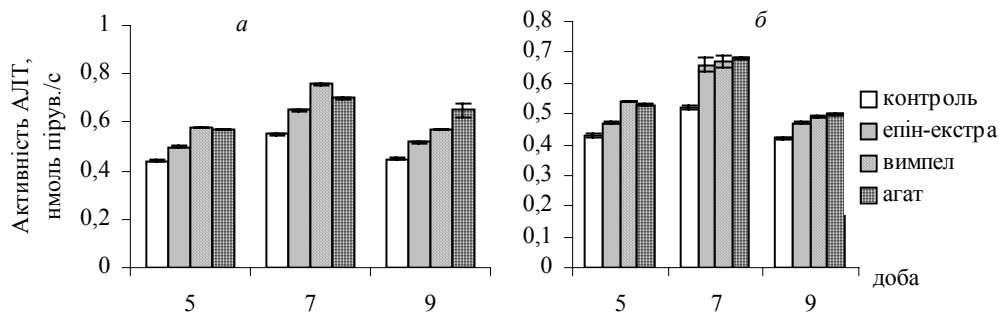


Рис. 4. Динаміка активності аланінамінотрансферази в листках (а) і коренях (б) проростків кукурудзи гібриду Оржиця 237МВ за передпосівної обробки насіння стимуляторами росту

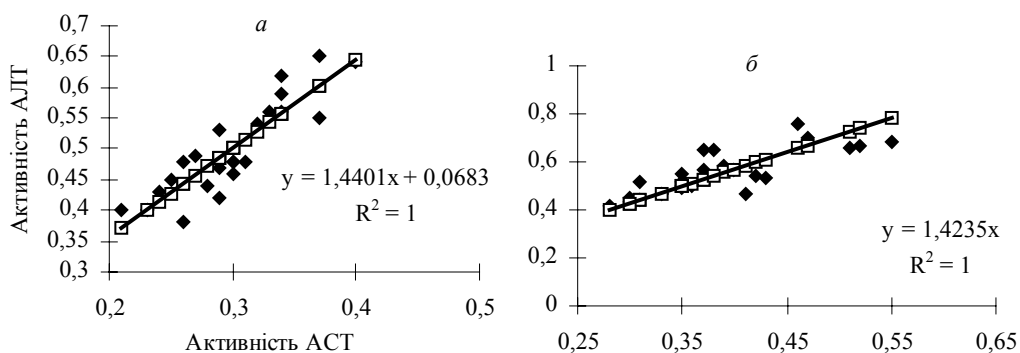


Рис. 5. Взаємозв'язок активності АСТ та АЛТ проростків кукурудзи гібриду Хмельницький 280СВ (а) та Оржиця 237МВ (б) за дії різних стимуляторів росту: \diamond – практичне значення АЛТ, \square – теоретичне значення АЛТ

Дані щодо вмісту загального протеїну в листках і коренях свідчать, що у п'ятидобових листках кукурудзи гібриду Хмельницький 280СВ концентрація білка дослідних варіантів відповідала контрольним. На сьому добу онтогенезу цей показник за дії препаратів «Вимпел» і «Агат» достовірно перевищував контроль на 69 та 67 %, а на дев'яту – відповідно на 23 і 33 %. У коренях вміст білка збільшувався на 42 % вже на п'яту добу онтогенезу та продовжував зростати до 70 % на сьому добу та 30 % на дев'яту добу. У листках і коренях кукурудзи гібриду Оржиця 237МВ вміст білка за дії «Вимпела» та «Агата» перевищував контроль на п'яту добу онтогенезу на 51–28 %, на сьому – на 50–25 %, на дев'яту добу – на 58–27 %. Для досліджуваних гібридів залежність накопичення протеїну від терміну проростання подібна до змін активності амінотрансфераз у анатомічних частинах проростків.

Висновки

Передпосівна обробка насіння стимуляторами росту «Вимпел» і «Агат» викликала зростання активності ферментів переамінування на фоні підвищення вмісту загального білка в анатомічних частинах проростків. При цьому зростала інтенсивність гідролізу запасних речовин. «Епін-Екстра» достовірних змін цих параметрів не викликав. На фоні тенденції до підвищення активності амінотрансфераз під впливом стимуляторів росту виявлено і суто сортоспецифічні реакції. Порівняння метаболічної реакції гібридної кукурудзи за впливу стимуляторів росту дозволило відібрати «Вимпел» і «Агат» як найефективніші препарати, що регулюють ріст. Вони після подальшого поглибленого дослідження фізіолого-біохімічних реакцій рослин у лабораторних і виробничих умовах можуть бути рекомендовані для застосування в сільському господарстві.

Бібліографічні посилання

1. **Активність** ключевых ферментов фотосинтеза и особенности азотного метаболизма у C_3 и C_4 -растений в условиях водного стресса / А. К. Юзбеков, И. Г. Шматько, О. Е. Шведова, О. П. Латашенко // Физиология и биохимия культурных растений. – 1989. – Т. 20, № 6. – С. 523–527.
2. **Більчук В. С.** Особливості азотного обміну в вегетативних та репродуктивних органах інтродукованих рослин / В. С. Більчук, О. М. Вінниченко // Сучасні проблеми фізіології та інтродукції рослин. Матер. Всеукр. конф. до 80-річчя проф. Л. Г. Долгової. – Д. : ДНУ, 2007. – С. 10.
3. **Більчук В. С.** Вплив гербіцидної обробки на функціонування системи переамінування сільськогосподарських культур / В. С. Більчук, О. М. Вінниченко, В. Я. Попов // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2001. – Вип. 9. – С. 196–204.
4. **Більчук В. С.** Влияние эндо- и экзогенных факторов на ферменты переаминирования / В. С. Бильчук, О. А. Папета // Адаптация растений в антропогенных условиях. – Д. : ДГУ, 1992. – С. 4–14.
5. **Василюк О. М.** Вплив антропогенного забруднення на ферменти переамінування деяких сільськогосподарських культур / О. М. Василюк, Н. П. Коцюбинська // Фізіологія рослин та екологія. Матер. Всеукр. наук.-практ. конф. – Д. : ДНУ, 2003. – С. 35.
6. **Василюк О. М.** Вплив ксенобіотиків на ферменти переамінування у C_4 -рослин на фоні дії регулятора росту агростимулін / О. М. Василюк, Н. П. Коцюбинська // Фізіологія рослин та екологія. Матер. Всеукр. наук.-практ. конф. – Д. : ДНУ, 2003. – С. 35–36.
7. **Вінниченко А. Н.** Ферменты азотного метаболизма и адаптация растений к антропогенным условиям среды / А. Н. Винниченко, Н. П. Коцюбинская, В. С. Бильчук // Вестник Днепропетр. ун-та. Биология. Экология. – 1996. – Вып. 2. – С. 138–146.
8. **Войцеховска Е. В.** Влияние новых физиологически активных веществ на продуктивность зерновых / Е. В. Войцеховска, В. И. Войцеховский // Стрес і адаптація рослин: фізіологія, біохімія, генетика. Матер. семінару молодих учених, аспірантів і студентів. – Харків, 2005. – С. 48–49.
9. **Воробець Н. М.** Активність аспарат- і аланін амінотрансфераз у соняшника за дії різних доз свинцю // Физиология и биохимия культурных растений. – 2002. – Т. 34, № 2. – С. 147–151.
10. **Голунова Л. А.** Вплив ретардантів на інтенсивність азотфіксації рослинами сої // Актуальні проблеми фізіології, генетики та біотехнології рослин і ґрунтових мікроорганізмів. Тези доп. ІХ конф. молодих дослідників, присвяченої 100-річчю від дня народження акад. АН УРСР ВАСГНІЛ П. А. Власюка. – К., 2005. – С. 11.
11. **Кретович В. Л.** Обмен азота в растениях. – М. : Наука, 1992. – 527 с.
12. **Практикум по физиологии растений** / Под ред. В. И. Иванова. – М. : Агропромиздат, 1990. – 120 с.
13. **Bredford M. M.** A rapid and sensitive method for quantitative of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

Надійшла до редколегії 20.03.2011