

УДК: 577.152.3;633.15

ВПЛИВ ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ НА АКТИВНІСТЬ α -АМІЛАЗИ НАСІННЯ КУКУРУДЗИ (*ZEA MAYS L.*) ПРИ ПРОРОСТАННІ

М.О. КОЛЕСНИКОВ, кандидат сільськогосподарських наук,
Таврійський державний агротехнологічний університет

Показано вплив водного дефіциту на зміну активності α -амілази насіння кукурудзи на ранніх етапах проростання. В ендоспермі насіння кукурудзи спостерігали активацію α -амілази протягом першої доби за дії водного стресу. Зафіксовано інгібування активності α -амілази в колеоптилях та коренях проростків кукурудзи.

Ключові слова: водний дефіцит, α -амілаза, кукурудза, насіння, проростання.

Широко розповсюдженим ферментом вищих рослин, тварин, бактерій та грибів є α -амілаза (КФ 3.2.1.1). Під час проростання крохмаль ендосперму насіння злакових культур гідролізується під впливом амілази, яку секретують клітини алейронового шару та щитку. Відомо, що цей фермент гідролізує α -1,4 глюкозні зв'язки амілози та амілопектину крохмалю. Щонайменше три ізоензимні форми α -амілази активно синтезуються *de novo* під час проростання насіння злакових культур. Синтез α -амілази стимулюється на рівні транскрипції гібереліном та регулюється абсцизовою кислотою [4].

Під час адаптації рослин до умов водного стресу відбуваються суттєві фізіолого-біохімічні перебудови, пов'язані із зміною стану продигового апарату, асиміляції CO_2 , іонного транспорту, темпів росту, експресією фітогормональних інгібіторів, біосинтезу білків. На ріст, розвиток та продуктивність кукурудзи особливо негативно впливає дефіцит вологи. Зміна активності α -амілази є чутливим маркером водного стресу, що зумовлено активацією її інгібіторів у період гетеротрофного етапу онтогенезу рослин. Гальмування активності α -амілази призводить до зменшення пулу відновлених

вуглеводів та, як результат, до послаблення резистентності осмотичному стресу [3].

Метою роботи було з'ясувати зміну активності α -амілази в ендоспермі насіння та коренях і колеоптилях проростків кукурудзи в умовах модельного водного дефіциту.

Матеріал і методика дослідження. Дослідження проводили в лабораторних умовах та використовували насіння кукурудзи (*Zea mays L.*) гібрида ДКС 5143. Насіння кукурудзи пророщували на фільтрувальному папері в чашках Петрі [2] при контрольованій температурі ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) і освітленості (4000 лк) в умовах 14-годинного фотоперіоду протягом 7 діб.

Схема досліду складалася з п'яти варіантів у п'ятикратній повторності. Насіння контрольного варіанта пророщували на дистильованій воді. Для моделювання умов водного дефіциту насіння кукурудзи дослідних варіантів пророщували 7 діб на розчинах різних концентрацій поліетиленгліколю ПЕГ–1500 (2, 5, 10, 20% водні розчини). Ложе зволожували дистильованою водою щоденно, не допускаючи перезволоження та підсихання.

Для проведення дослідження відбирали сухе насіння кукурудзи, ендосперм проростаючого насіння через 2, 4, 6, 12, 24 години з початку пророщення та органи зародкової вісі 3- та 7-добових проростків (колеоптиль та корені).

Активність α -амілази визначали з використанням крохмального субстрату амілокластичним методом [5], вміст водорозчинної фракції білку за О.Н. Lowry [1]. Ступень проростання контролювали за визначенням енергії проростання на 3-тю добу та лабораторної схожості насіння на 7-му добу [2].

Спектрофотометричні дослідження проводили з використанням КФК-3.

Результати опрацьовували статистично за допомогою програми «Microsoft Excel 2010» з розрахунком t-критерію Стьюдента. В роботі використані реактиви кваліфікації х.ч. та ч.д.а. німецького та українського виробництва.

Результати дослідження. Протягом перших годин фази набубнявіння спостерігається зростання активності α -амілази в ендоспермі насіння (рис. 1). В

цей період насіння поводить як адсорбент і ступінь активації ферментів залежить від його вологості. За умов модельного водного дефіциту, створеного розчинами ПЕГ-1500 різних концентрацій, короточасне зростання активності α -амілази в ендоспермі насіння кукурудзи призупиняється і починає зменшуватися протягом 6 годин від початку пророщування. Так, за дії 10% та 20%-вих розчинів ПЕГ активність α -амілази зменшувалася в 3,7 та 2,7 раза порівняно з активністю в ендоспермі контрольного насіння після 6 годин з початку експерименту.

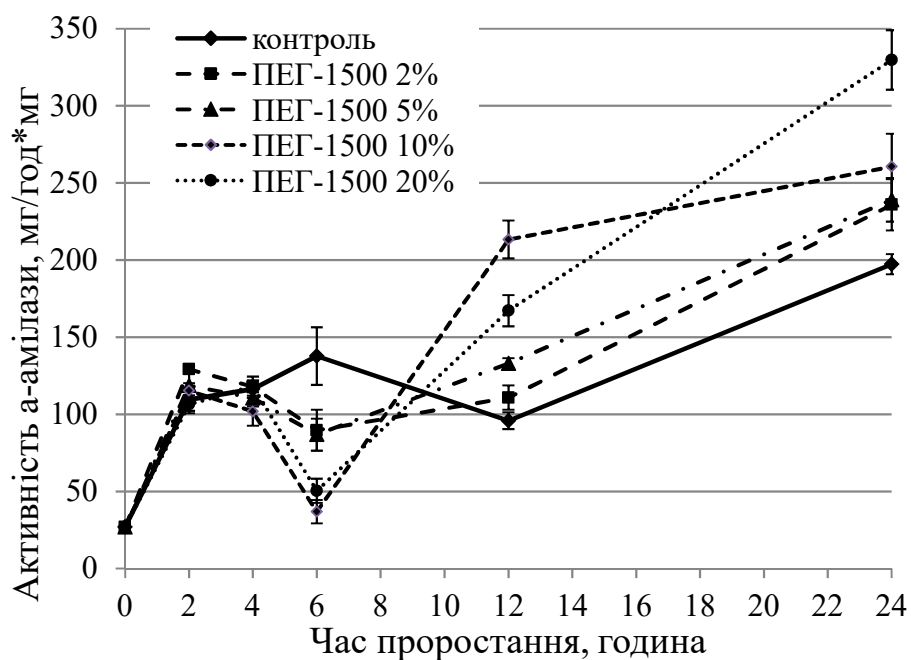


Рис.1 Зміна α -амілазної активності в ендоспермі насіння кукурудзи за дії дефіциту вологи.

Наступна фаза пророщування (кільчення) характеризується переходом насіння до насиченого стаціонарного стану водозабезпечення. Кільчення насіння відбувається за рахунок розтягнення клітин осьових органів зародку та при цьому спостерігається зміна характеру активності α -амілази в ендоспермі кукурудзи. До добового терміну пророщування насіння кукурудзи зберігається загальна тенденція до зростання α -амілазної активності ендосперму, що узгоджується з одержаними даними [4,8]. Разом з тим, на 12- та 24-ту годину

пророщення активність α -амілази в насінні контрольного варіанту виявилася меншою, порівняно з насінням, пророщуваним на розчинах ПЕГ-1500. Активність ферментів, що транспортуються до ендосперму з щитку в цей період знаходиться під фітогормональним контролем. Активність α -амілази залежить від певного співвідношення процесів синтезу, транспорту, перерозподілу гібереліну та АБК. Відомо, що в умовах водного дефіциту спостерігається АБК-індуковане інгібування α -амілазної активності, яке може знімати ГК₃. Проте механізми регуляції α -амілазної активності в ендоспермі та вегетативних органах рослин різних [7]. Високе значення осмотичного потенціалу 20% ПЕГ-1500 виявилось сублетальним. Насіння, яке культивувалось на цьому розчині не проросло, хоча й набубнявіло.

Визначення α -амілазної активності в органах зародкової вісі 3-добових проростків кукурудзи показало (рис. 2), що експозиція на розчинах ПЕГ-1500 призвела до інгібування її активності в колеоптилях - на 24,4-35,8%, а у коренях - на 50,4-63,4% ($p \leq 0,05$).

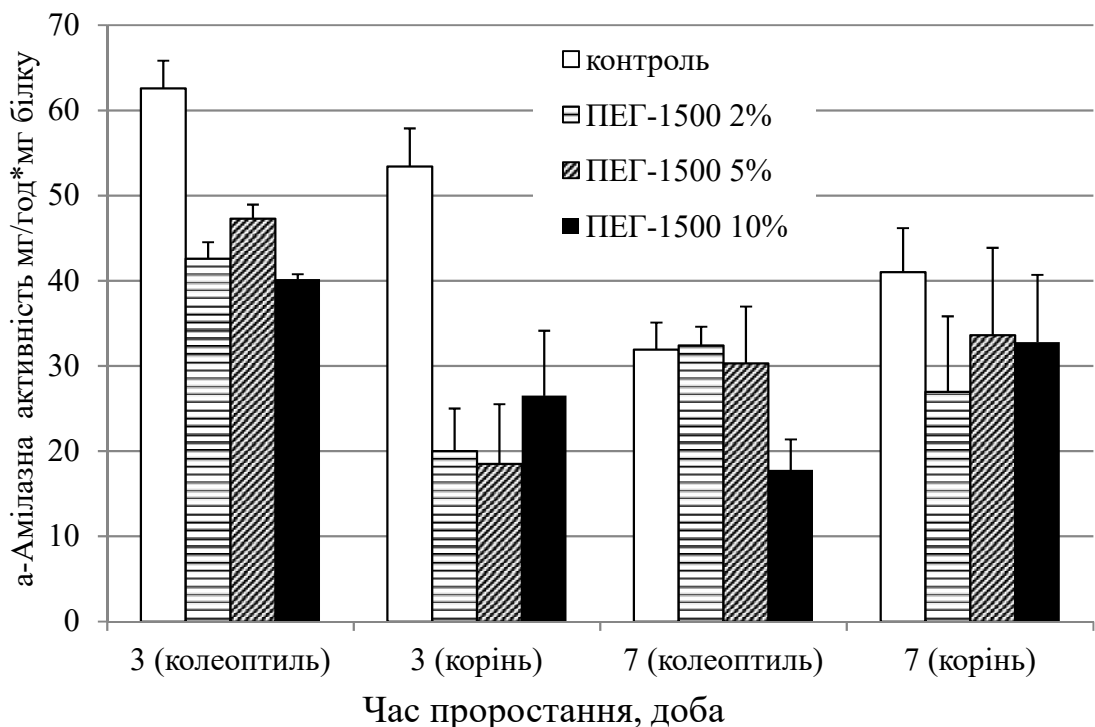


Рис. 2 Активність α -амілази в колеоптилях та коренях 3- та 7-добових проростків кукурудзи.

Водний стрес призводить до накопичення АБК у вегетативних органах рослин, яка стимулює синтез білкового інгібітору амілази та призводить до нагромадження низькомолекулярних осмолітів, які також знижують α -амілазну активність [6]. Активність α -амілази в 7-добових колеоптилях кукурудзи вірогідно знижується в 1,8 раза лише за високоосмотичної експозиції в 10%-вому розчині ПЕГ. Тоді як, в коренях кукурудзи в цей термін пророщування не відзначали вірогідних змін в активності α -амілази, а спостерігали лише тенденцію до інгібування її активності за умов водного стресу.

Висновки. Отже, дослідження α -амілазної активності ендосперму насіння та органів зародкової вісі кукурудзи дозволило з'ясувати особливості змін активності цього ферменту в умовах підвищеного осмотичного потенціалу середовища на ранніх етапах проростання. Встановлено, що на фоні поступової активації α -амілази ендосперму, зміни її активності за дії водного стресу мали мінливий характер з підсиленням активності до добового терміну пророщування. В колеоптилях та коренях кукурудзи протягом першого тижня пророщування зафіксовано інгібування активності α -амілази. В цілому, зазначені зміни носять адаптаційний характер до стресового впливу та обумовлені особливостями фітогормонального стану проростаючого насіння.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, Н.П. Ярош и др.; под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
2. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести: ГОСТ 12038-84. Введённый 01.07.86. – М., 1984. – 30 с.
3. Jacobsen J.V. Water stress enhances expression of an α -amylase gene in barley leaves / J.V. Jacobsen, R. Hanson, P. Chandler // Plant Physiol. -1986. –V.80. – P. 350-359.
4. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H.Lowry, N.I.Rosenbrough, A.R. Farr // J.Biol.Chem. – 1951. –V. 193, № 1. – P. 265-275.

5. MacGregor A.W. Changes in levels of α -amylase components in barley tissues during germination and early seedling growth / A.W. MacGregor, F.H. MacDougall, Ch. Mayer, J. Daussant // Plant Physiol. -1984. – V.75. – P. 203-206.
6. Oudjeriouat N. On the mechanism of α -amylase / N. Oudjeriouat, Y. Moreau, M. Santimone, B. Svensson, G. Marchis-Mouren, V. Desseaux // Eur. J. Biochem. – 2003. – V.270. – P. 3871–3879.
7. Robertson M. Induction of α -amylase inhibitor synthesis in barley embryos and young seedlings by abscisic acid and dehydration stress / M. Robertson, M. Walker-Simmons, D. Munro, R.D. Hill // Plant Physiol. – 1989. – V.91. – P. 415-420.
8. Warner D.A. Isolation and characterization of α -amylases from endosperm of germinating maize / D.A. Warner, M.J. Grove, C.A. Knutson // Cereal Chem. – 1991. – V. 68(4). – P. 383-390.

Колесников М.А. Влияние водного дефицита на активность α -амилазы зерна кукурузы (*Zea mays L.*) при прорастании

Рассматривается влияние водного дефицита на изменение активности α -амилазы зерна кукурузы на ранних этапах прорастания. В эндосперме зерна кукурузы наблюдали активацию α -амилазы на протяжении первых суток под действием водного стресса. Зафиксировано ингибирование активности α -амилазы в coleoptiles и корнях проростков кукурузы.

Ключевые слова: водный дефицит, α -амилаза, кукуруза, зерно, прорастание.

Kolesnikov M.O. The influence of water deficit on α -amylase activity of maize grain (*Zea Mays L.*) during germination

*It is considered the influence of water deficit on the changes in the α -amylase activity of *Zea Mays L.* in the early stages of germination. It was shown the activation of α -amylase in the endosperm of maize during the first days under the water stress. It's fixed the inhibition of α -amylase activity in the coleoptiles and roots of the maize seedlings.*

Keywords: water deficit, α -amylase, corn, grain, germination.