

ВПЛИВ 6-БАП НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТУ САХАРАЗИ В РОСЛИНАХ КУКУРУДЗИ ЗА РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУРНИХ УМОВАХ

О.В. БАЛАНДА кандидат біологічних наук, Н.Г. ЧЕРНЕГА студентка

Досліджено вплив 6-БАП на активність ферменту сахарози в рослинах кукурудзи сорту Одеська 10 за нормальних температурних умов, а також за низьких позитивних необоротно пошкоджуючих температур. Виявлено, що екзогенний цитокінін у концентрації 5 мкг/дм³ підвищує активність сахарози, а також накопичення сухої речовини коренів кукурудзи і несуттєво знижує суху масу листків.

Ключові слова: 6-БАП, фермент, концентрація, кукурудза, біомаса.

Кукурудза є однією з найвисокопродуктивніших злакових культур універсального призначення, яку вирощують для продовольчого, кормового і технічного використання. В країнах світу для продовольчих потреб використовується приблизно 20 % зерна кукурудзи, для технічних - 15 - 20 %, на корм худобі - 60 - 65 %. У нашій країні кукурудза є найважливішою кормовою культурою. За її рахунок тваринництво забезпечується концентрованими кормами, силосом і зеленою масою.

Дієвим засобом регуляції продуктивності сільськогосподарських культур, а також важливим компонентом сучасних технологій виробництва продукції рослинництва є гормони рослин – фітогормони. Утворюючись в одних органах або тканинах рослин, вони надходять в інші тканини і органи, спрямовуючи характер протікання в них обмінних процесів. Таким чином, ці речовини забезпечують функціональну цілісність рослинного організму, узгоджену діяльність всіх його частин [5, 8, 11]. Також, важливим аспектом дії регуляторів росту є підвищення стійкості рослин проти несприятливих факторів середовища – високих і низьких температур, нестачі вологи, враження хворобами і шкідниками [3, 6].

Метою дослідження було вивчити вплив 6-бензиламінопурину (6-БАП) на активність ферменту сахарази в коренях та листках кукурудзи (*Zea mays L.*).

Матеріал і методика досліджень. Дослідження проводили на рослинах кукурудзи сорту Одеська 10, вирощених у водній культурі на поживному середовищі Моліша, приготовленому на відстояній водопровідній воді, що слугувала джерелом мікроелементів [12].

Насіння пророщували впродовж 72 год. у термостаті в кюветах, на фільтровальному папері, змоченому відстояною водопровідною водою, при температурі 25 °С в темноті до появи зародкового корінця. Пророслі насінини підбирали з однаковою довжиною корінця, висаджували в скляні посудини ємністю 0,5 дм³, заповнені поживною сумішю. Рослини вирощували при температурі повітря 23-25 °С, відносній вологості 55-60 % і природному освітленні.

Для дослідження впливу необоротно ушкоджуючих температур на рослини кукурудзи їх вміщували у холодильник на 3 години при температурі плюс 4 °С.

Цитокінін (6-БАП) у концентрації 5 мкг/дм³ вносили в поживну суміш при висаджуванні проростків.

Активність сахарази визначали через 3, 6, 24, 48, 72, 96, 120 год за Х.Н. Починком [9].

Результати досліджень та їх обговорення. Відомо, що одним з ключових ферментів вуглеводного обміну в рослині є інвертаза, за активністю якої можна прогнозувати перерозподіл в органах рослин транспортних і метаболічних форм цукрів. Вона належить до групи карбогідраз, що розщеплюють складні вуглеводи на прості цукри. Її називають ще сахаразою і β-фруктофуранозидазою, через дію на цукри, що містять залишок β-фруктози – сахарозу, рафінозу, генціанозу і стахіозу [9]. Оптимальна кислотність рН дії ферменту становить 4,5-5,5. Найактивніше цей фермент гідролізує сахарозу з утворенням відновлювальних цукрів – глюкози і фруктози.

Наші дослідження з впливу екзогенного цитокініну на активність ферменту сахарози в коренях рослин кукурудзи показали, що 6-БАП у концентрації 5 мкг/дм³ збільшував активність ферменту сахарози порівняно з контролем впродовж всього експерименту (табл. 1). Активність фермента досягала максимуму на п'яту добу після внесення фітогормону в поживне середовище і становила в дослідному варіанті 9,24 мкмоль за 1 год на 1 г сирої маси, що більше ніж удвічі перевищує показники контрольного варіанта.

1. Вплив екзогенного цитокініну на активність ферменту сахарози в коренях кукурудзи сорту Одеська 10 в динаміці за нормальних температурних умов

Час, год	Активність сахарози, мкмоль інвертного цукру, який утворився впродовж 1 год на 1 г досліджуваної речовини	
	Контроль	6-БАП, 5 мкг/дм ³
3	0	0,24±0,17
6	0	0,73±0,32
24	0,69±0,11	1,62±0,15
48	0,79±0,13	3,72±0,28
72	0,97±0,09	7,49±0,30
96	1,46±0,08	8,89±0,17
120	4,52±0,10	9,24±0,30

За нормальних температурних умов на п'яту добу росту рослин активність ферменту сахарози в їх коренях порівняно з вихідним значенням з віком паростків, у контрольному варіанті збільшилась у 6,5 раза, а в дослідному – у 38,5 раза. Відповідно до механізму дії екзогенного цитокініну [2, 4, 7, 11] через 3 год після внесення (див. табл. 1) фітогормон збільшував активність сахарози стимулюючи апарат білкового синтезу через механізм трансляції шляхом збільшення кількості полірибосом, а також через посттранскрипційний механізм, формуючи полісоми з існуючих моносом.

У контрольному варіанті активність ферменту проявилась лише через 24 год після висаджування рослин на поживне середовище, тоді як під впливом цитокініну його активність проявилась через 3 год, що узгоджується з даними О.Н. Кулаєвої [7] і Т.П. Мікулович [10] про стимулювання апарату білкового синтезу в ізольованих сім'ядолях гарбуза.

2. Вплив екзогенного цитокініну на активність ферменту сахарози в листках кукурудзи сорту Одеська 10 в динаміці за нормальних температурних умов

Час, год	Активність сахарози, мкмоль інвертного цукру, який утворився впродовж 1 год на 1 г досліджуваної речовини	
	Контроль	6-БАП, 5 мкг/дм ³
3	0	0
6	0	0
24	0,46±0,12	2,08±0,34
48	0,53±0,07	4,00±0,10
72	0,98±0,10	5,10±0,25
96	1,22±0,10	5,81±0,31
120	2,49±0,22	6,78±0,18

В листках кукурудзи активність ферменту сахарози при нормальній температурі також невпинно зростала в міру їх росту, як і в коренях, але значення активності були набагато нижчими, ніж у коренях (табл. 2). Так, у середньому в коренях рослин у контрольному варіанті активність ферменту становила 1,2 мкмоль, а в листках у цей період була на 33 % нижчою. Під впливом цитокініну середнє значення активності його в коренях – 4,56 мкмоль, а в листках – 3,39 мкмоль. Таким чином, екзогенний цитокінін в усіх дослідних варіантах стимулював активність ферменту сахарози.

Дослідження впливу низьких позитивних необоротно пошкоджуючих температур у присутності екзогенного цитокініну показали, що активність

ферменту сахарози знизилась як у коренях, так і у листках в обох варіантах порівняно з нормальними температурними умовами (табл. 3, 4). Якщо при температурі 25 °С максимальна активність ферменту в коренях у контрольному варіанті становила 4,52 мкмоль, то при температурі 4 °С – 0,68 мкмоль або в 6,5 раза нижче.

3. Вплив екзогенного цитокініну на активність ферменту сахарози в коренях кукурудзи сорту Одеська 10 в динаміці при низьких позитивних необоротно пошкоджуючих температурах

Час, год	Активність сахарози, мкмоль інвертного цукру, який утворився впродовж 1 год на 1 г досліджуваної речовини	
	Контроль	6-БАП, 5 мкг/дм ³
3	0,23±0,03	0,46±0,04
6	0,41±0,08	0,65±0,07
24	0,48±0,01	0,71±0,04
48	0,67±0,08	0,75±0,01
72	0,68±0,07	0,87±0,09
96	0,22±0,02	0,45±0,01
120	0	0

У варіанті з цитокініном спостерігали таку саму закономірність: максимальна активність ферменту в коренях при нормальній температурі становила 9,24 мкмоль, а після дії холоду – 0,87 мкмоль.

Цитокінін в умовах холоду зберігав стимулюючу дію на активність ферменту сахарози, вже через 3 год стимулював її активність в коренях на 50 %.

За низьких позитивних необоротно пошкоджуючих температурах у коренях і листках в обох варіантах активність ферменту сахарози підвищувалась впродовж трьох діб і потім почала знижуватись, на відміну від активності ферменту при нормальних температурних умовах, де в цей час вона продовжувала збільшувати свою активність. Це може бути пов'язано з

віковими змінами та спрямованістю метаболічних процесів за дії низьких температур.

4. Вплив екзогенного цитокініну на активність ферменту сахарози в листках кукурудзи сорту Одеська 10 в динаміці при низьких позитивних необоротно пошкоджуючих температурах

Час, год	Активність сахарози, мкмоль інвертного цукру, який утворився впродовж 1 год на 1 г досліджуваної речовини	
	Контроль	6-БАП, 5 мкг/дм ³
3	0	0,23±0,02
6	0,22±0,03	0,44±0,06
24	0,48±0,05	0,66±0,06
48	0,75±0,04	0,87±0,09
72	1,11±0,08	1,18±0,10
96	0,43±0,03	0,65±0,04
120	0	0

В листках активність досягала максимуму на третю добу: в контрольному варіанті – 1,11 мкмоль, в дослідному – 1,18 мкмоль. При цьому фітогормон стимулював активність сахарози через 3 год після внесення, а у контролі лише через шість годин. Стимулююча дія в листках проявлялася менше ніж в коренях. Так, у листках рослин дослідного варіанта вона перевищувала показники контрольного в середньому на 26 %, а в коренях – 32 %.

На п'яту добу активність ферменту в коренях і листках кукурудзи в обох варіантах знизилась. Можливо це пов'язано з послабленням захисних механізмів у теплолюбної рослини кукурудзи при дії низьких позитивних необоротно пошкоджуючих температур з одного боку і послабленням крихких зв'язків у молекулі білка ферменту сахарози з іншого, до яких належать в першу чергу розпад гідрофобних взаємодій при низьких температурах, йонних, Ван-дер-Ваальсових і водневих зв'язків, згідно з теорією біохімічної адаптації [6].

Таким чином, екзогенний цитокінін стимулює активність ферменту сахарази в коренях і листках кукурудзи за температури 25 °С та дещо слабкіше за необоротно пошкоджуючої температури 4 °С.

В проведених дослідах встановлено, що 6-БАП в концентрації 5 мкг/дм³, починаючи з першої доби, стримує ріст головного кореня і надземної частини відносно контролю (табл. 5). Так, на п'яту добу довжина коренів контрольного варіанта перевищує показники дослідного на 28 %, а ріст надземної частини знижується на 26 %.

5. Вплив екзогенного цитокініну на ріст головного кореня та надземної частини

Час, год	Довжина головного кореня, см		Довжина надземної частини, см	
	Контроль	6-БАП, 5 мкг/дм ³	Контроль	6-БАП, 5 мкг/дм ³
24	4,47±0,39	3,10±0,12	1,21±0,05	1,09±0,02
48	7,74±0,34	5,04±0,33	2,22±0,12	1,83±0,08
72	9,30±0,28	5,64±0,36	4,97±0,32	3,04±0,12
96	11,28±0,56	7,07±0,28	7,08±0,29	5,88±0,31
120	12,53±0,69	9,00±0,46	9,15±0,15	6,79±0,23

Екзогенний цитокінін стримує ріст не лише головного, але й процес закладання і ріст бокових коренів (табл. 6).

На 10-ту добу кількість бокових коренів у контрольному варіанті становила 92 шт., а у дослідному – 3,7 шт, тобто знизилась в 25 разів. Відповідно загальна довжина бокових коренів також зменшилась і в дослідному варіанті була меншою на 276 см порівняно з контрольним варіантом. Таку саму закономірність спостерігали і в рості надземної частини. В контрольному варіанті площа листкової поверхні однієї 10-добової рослини дорівнювала 36,4 см², а в дослідному – 27,7 см², тобто була на 24 % нижчою.

6. Вплив екзогенного цитокініну на деякі морфологічні показники 10-добових рослин кукурудзи

Варіант	Довжина головного кореня одної рослини, см	Бокові корені одної рослини		Площа листкової поверхні рослини, см ²
		Кількість, шт.	Загальна довжина, см	
Контроль	15,7±0,7	92,0±4,9	291,7±28,7	36,4±1,7
6-БАП, 5 мкг/дм ³	13,5±0,4	3,7±0,1	15,7±0,9	27,7±2,1

Таким чином, за впливу екзогенного цитокініну ріст головного кореня і надземної частини, процес закладання та ріст бокових коренів, а також площа листків рослин знижувалися. Однак не зважаючи на всі ці зміни продуктивність рослин не зменшилась. За даними І.Р. Рахімбаєва та інших дослідників, цитокінін підвищує інтенсивність фотосинтезу [1, 8, 11], внаслідок чого суха речовина накопичується швидше. З даних в таблиці 7 видно, що екзогенний цитокінін у концентрації 5 мкг/дм³ призводить до суттєвого зниження сирої маси як коренів, так і листків кукурудзи.

7. Вплив екзогенного цитокініну на сирі і суху масу рослин кукурудзи на 12-ту добу після висаджування на поживне середовище

Варіант	Сира маса одної рослини, г	Суха маса одної рослини, г
Корені		
Контроль	0,531±0,043	0,025±0,002
6-БАП, 5 мкг/дм ³	0,272±0,005	0,016±0,001
Листки		
Контроль	1,524±0,081	0,170±0,014
6-БАП, 5 мкг/дм ³	0,712±0,031	0,063±0,002

Маса коренів рослин у контрольному варіанті перевищувала масу коренів у дослідному на 49 %, а маса листків була вдвічі більшою, ніж у досліді. Проте суха маса рослин кукурудзи під впливом екзогенного цитокініну зростала. Суха маса коренів рослин дослідного і контрольного варіантів була практично однаковою.

Відомо, що цитокінін підвищує оводненість і водоутримувальну здатність тканин [7, 8]. Цим, насамперед, і пояснюється деяке зниження сухої маси листків у дослідному варіанті порівняно з контрольним.

Висновки

1. Екзогенний цитокінін у концентрації 5 мкг/л за температури 25°C і при низьких позитивних необоротно ушкоджуючих температурах підвищує активність ферменту сахарази як у коренях, так і в листках.
2. Активність ферменту при дії холоду знижується і в коренях, і в листках порівняно з нормальними умовами, однак стимулююча дія цитокініну в цих умовах зберігається.
3. Екзогенний цитокінін у концентрації 5 мкг/л спричиняє зниження росту головного кореня і надземної частини, формування і ріст бокових коренів, а також площу листків рослин.
4. Екзогенний цитокінін сприяє накопиченню сухої речовини коренів кукурудзи і несуттєвому зниженню сухої маси листків.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабаджанова М.А. Влияние цитокинина на активность энзимов карбоксилирующей фазы фотосинтеза из листьев хлопчатника и резушки Таля / М.А. Бабаджанова // Регуляторы роста и развития растений: Тез. докл. I Всес. конф. – М.: Наука, 1981. – С. 16 – 17.
2. Блохин В.Г. Стимуляция и депрессия цитокинином биосинтеза белка в корнях кукурузы / В.Г. Блохин // 5 Съезд генетиков и селекционеров Украины: «Наукові доповіді НУБіП» 2011-3 (25) http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_3/11bov.pdf

Тез. докл. ч.1. – Умань. – 1986. – С 64 – 64.

3. Блохін В.Г. Вплив екзогенного цитокініну на холодостійкість рослин / В.Г. Блохін // 2 З'їзд Українського товариства фізіологів рослин: Тез. доп., т.1 – К.: Київ, 1993. – С. 20 – 21.

4. Блохин В.Г. Концентрационная зависимость влияния 6-БАП на рост растений разных видов / В.Г. Блохин // Физиология растений – 1986. – 33, №6. – С. 84 – 89.

5. Головкин Б.Н. Биологически активные вещества растительного происхождения / Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова, А.И. Шретер – М.: Наука, 2001, т. 2 (Л-Я). – 764 с.

6. Зауралов О.А. Роль фитогормонов и ферментов в регуляции устойчивости растений / О.А. Зауралов, А.С. Лукаткин // Регуляция ферментативной активности у растений. – Горький: Альтера, 1986. – 73 с.

7. Кулаева О.Н. О механизме действия цитокининов / О.Н. Кулаева // Сб.: Рост растений и природные регуляторы. – М.: Наука, 1982. – 235 с.

8. Леопольд А. Рост и развитие растений / А. Леопольд; под ред проф. И.И. Гунара. – М.: Мир, 1968. – 494 с.

9. Методы биохимических исследований растений / Под ред. А.Е.Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.

10. Микулович Т.П. Влияние 6-БАП на изолированные семядоли тыквы / Т.П. Микулович, В.А. Хохлова, О.Н. Кулаева // Физиология растений. – 1971. – 18., №4 – С. 98 – 103.

11. Рахимбаев И.Р. Природные цитокинины растений: распространение и физиологические функции / И.Р. Рахимбаев, В.Ф. Соломина // Фитогормоны – регуляторы роста растений. – М.: Наука, 1980. – 187 с.

12. Хлястіков Г.П. Практикум з фізіології і біохімії рослин / Г.П. Хлястіков, Б.М. Мойсеєнко. – К.: Урожай, 2001. – 118 с.

ВЛИЯНИЕ 6-БАП НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТА САХАРАЗЫ В РАСТЕНИЯХ КУКУРУЗЫ ПРИ РАЗНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ УСЛОВИЯХ.

О.В. Баланда, Н.И. Чернега

Исследовано влияние 6-БАП на активность фермента сахаразы в растениях кукурузы сорта Одесская 10 при нормальных температурных условиях, а также в условиях низких позитивных необратимо повреждающих температур. Установлено, что экзогенный цитокинин в концентрации 5 мкг/дм³ повышает активность сахаразы, а также накопление сухого вещества корней кукурузы и несущественно снижает сухую массу листьев.

Ключевые слова: 6-БАП, фермент, концентрация, кукуруза, биомасса.

INFLUENCE OF 6-BAP ON THE ACTIVITY OF THE ENZYME SACCHARASE IN CORN PLANTS IN DIFFERENT TEMPERATURE CONDITIONS

O.V.Balanda, N.I.Chernega

The influence of 6-BAP on the enzyme activity of saccharase corn plants varieties Odessa 10 at normal temperature and under low positive irreversibly damaging temperatures has been investigated. Revealed that ekzogenic cytokinin in a concentration of 5 mkg/dm³ increases the activity of saccharase and dry matter accumulation of maize roots and insignificant decreases the dry weight of leaves.

Key words: 6-BAP, enzyme, concentration, corn, biomass