

УДК 581.143.2

ЗМІНИ В ПОЛІСАХАРИДНОМУ КОМПЛЕКСІ КЛІТИННИХ СІМ'ЯДОЛЕЙ ПРОРОСТКІВ ГАРБУЗА ЗА РІЗНОГО РІВНЯ ДОНОРНО-АКЦЕПТОРНИХ ВІДНОСИН У ПРОЦЕСІ ПРОРОСТАННЯ

І.В. ПОПРОЦЬКА

*Вінницький державний педагогічний університет ім. М. Коцюбинського
21100 Вінниця, вул. Острозького, 32
e-mail: vsppin@sovamua.com*

Вивчали вплив гібереліну (ГК₃) та хлормекватхлориду на полісахаридний комплекс клітинних стінок сім'ядолей гарбуза в процесі проростання за умов ското- і фотоморфогенезу. Встановлено, що процес проростання насіння гарбуза супроводжується істотною перебудовою полісахаридного комплексу. Як резервна речовина використовуються пентозани клітинних стінок. Змінюється конформація та збільшується молекулярна маса пектинів унаслідок перебігу процесів етерифікації карбоксильних груп цих полісахаридів. Процес посилюється в умовах скотоморфогенезу в результаті інтенсивного росту проростків за відсутності автотрофного живлення і, як наслідок, глибокої утилізації резервів донора пластичних речовин — сім'ядолей.

Ключові слова: регулятори росту, полісахариди, проростання насіння, донорно-акцепторні відносини.

Відомо, що запасні речовини різних типів відіграють роль буфера між фотосинтезом як донором асимілятів і ростом вегетативних, запасючих та репродуктивних органів як акцептором асимілятів [4]. Надлишок асимілятів може відкладатися не тільки у вигляді крохмалю, білків і жирів, а й у вигляді структурних полісахаридів [5], що входять до складу клітинних стінок, причому ретарданти і фітогормони діють на ці процеси протилежно. Зокрема, за дії ретарданту піксу активність ферментів, що регулюють процес формування волокон бавовнику — глюкансинтази й пероксидази — збільшувалась, унаслідок чого прискорювався процес формування клітинних стінок [1], а гібереліни та ауксини зумовлювали розпушення клітинної стінки через активацію ферментів, які розщеплюють полісахариди [18]. Зворотні процеси відбувались при дозріванні плодів і ягід: посилення активності ферментів, що руйнують полісахариди [8], значні зміни структури геміцелюлоз [17], співвідношення протопектин : розчинний пектин, деполімеризація пектинів [21], розщеплення глікопротеїнового комплексу серединних пластинок [3]. Разом з тим зміни у полісахаридному комплексі клітинних стінок запасючих клітин при проростанні насіння, масштабність використання полісахаридів як резервних сполук залишаються маловідомими.

Встановлено також, що світло як один із ключових чинників середовища не тільки забезпечує процес автотрофного живлення, а й через

систему фоторецепторів (фітохромів, криптохромів, фототропіну) запускає програму фотоморфогенезу [12]. Це забезпечує деетіоловання, утворення хлоропластів, формування листкових пластинок і, як наслідок — перехід до автотрофного живлення.

Рослини, які проростають у повній темряві, розвиваються за програмою скотоморфогенезу: в них видовжуються епикотиль і гіпокотиль, що супроводжується збільшенням вмісту вільних форм гіберелінів, утворюється гіпокотильна петля, жовкнуть сім'ядолі і гофровані перші листки. Вважають, що гібереліни потрібні для росту в темряві і пригнічення фотоморфогенезу [15].

Відомо, що в окремих випадках у критичні періоди життя рослини основний структурний полісахарид клітинних стінок — целюлоза — може частково гідролізуватись і використовуватись як резервна речовина. Зокрема, зміни у молекулярній структурі целюлози клітинних стінок ягід малини при дозріванні висвітлено у праці [5], автор якої встановив, що процес дозрівання ягід супроводжується збільшенням ступеня полімеризації молекул целюлози, на підставі чого зробив висновок про частковий гідроліз целюлози зовнішніх шарів клітинної стінки при дозріванні, причому процес посилювався за дії етиленпродуцента. Зазначено, що дозрівання томатів, авокадо, ожини, груші, суниць, папаї, персику завжди пов'язане з підвищенням активності целюлази [14]. Ці дані узгоджуються з результатами досліджень інших авторів, які вивчали за допомогою електронного мікроскопа зміни в клітинній стінці після обробки тканин целюлазою. Під впливом останньої значно зменшувалась кількість фібрилярного матеріалу між клітинами й у зовнішній частині клітинної стінки, а внутрішня її частина не піддавалась дії цього ферменту [8]. Водночас можливості використання целюлози як резервної речовини при проростанні насіння очевидно не вивчалися.

На нашу думку, важливу інформацію про використання целюлозних компонентів клітинних стінок при проростанні насіння може дати вивчення змін вмісту полісахариду і ступеня полімеризації зразків целюлози з аналізом цих даних сумісно із сучасною концепцією будови клітинної стінки.

Слід зазначити, що практично відсутні роботи з вивчення особливостей ското- і фотоморфогенезу за дії антигіберелінових препаратів — ретардантів. Тому метою нашої роботи було з'ясування можливості використання структурних полісахаридів клітинних стінок на ранніх етапах розвитку насіння за умов ското- і фотоморфогенезу під дією екзогенного гібереліну і ретардантів.

Методика

Насіння гарбуза сорту Мозоліївський 15 замочували в розчинах препаратів ГК₃ (150 мг/л) та хлормекватхлориду (0,25 %-й водний розчин) протягом доби, після чого висаджували у кювети з вологим піском. Насіння контрольного варіанта пророщували на дистильованій воді. В усіх варіантах пророщування вели за розсіяного світла (фотоморфогенез) або в темряві (скотоморфогенез) за кімнатної температури. На 12-ту добу проростання у сім'ядолях визначали показники стану полісахаридного комплексу клітинних стінок.

Кількісний вміст пектинів встановлювали методом пектату кальцію [2]. Препарати пектину для вивчення вмісту карбоксильних груп і моле-

кулярної маси виділяли екстракцією із сухого, попередньо знежиреного матеріалу. Екстрагували 0,03 н НСІ протягом 1 год за співвідношення 1 : 10 й температури 80 °С. Отриманий екстракт фільтрували, залишок промивали 0,03 н НСІ, осаджували триразовим об'ємом етанолу. Після декантації осад центрифугували, розчиняли у воді, переосаджували етанолом (триразовий об'єм), центрифугували, промивали ацетоном і сушили [5].

В отриманих препаратах визначали вміст загальних, вільних і етерифікованих карбоксильних груп електрометричним титруванням [7]. Кількісний вміст целюлози встановлювали методом Кюршнера і Хаффера, вміст пентозанів — колориметрично за довжини хвиль 610—660 нм за якісною реакцією з орциновим реактивом [2]. Ступінь полімеризації пектинів і целюлози визначали віскозиметричним методом у віскозиметрі Убеллоде [13]. Розчинником для пектинів слугувала дистильована вода, для целюлози — залізо-тартрат-натрієвий комплекс [11]. Середню молекулярну масу полісахаридів розраховували за рівнянням Штаудингера [13] за допомогою програми MathCad.

Отримані матеріали оброблено статистично за допомогою комп'ютерної програми Statistica-5.

Результати та обговорення

Проведені нами дослідження вмісту целюлози та ступеня її полімеризації підтвердили, що вміст целюлози у знежиреному матеріалі сім'ядолей відрізняється за варіантами досліду (табл. 1). Зокрема, за умов скотоморфогенезу в усіх варіантах вміст целюлози в сім'ядолях був більшим порівняно із фотоморфними рослинами. На нашу думку, це є свідченням того, що у темряві внаслідок інтенсивнішого росту проростків із сім'ядолей швидше евакуюються резервні сполуки, внаслідок чого відносний вміст цього структурного полісахариду підвищується. Згідно з аналізом ступеня полімеризації зразків целюлози за варіантами досліду, цей показник практично не відрізнявся за умов ското- і фотоморфогенезу під впливом застосованих препаратів. Це свідчить про відсутність істотних змін у полімерній структурі целюлози клітинних стінок сім'ядолей у процесі проростання насіння гарбуза і неактивність целюлазного комплексу.

В літературі більша увага приділена резервним функціям геміцелюлоз клітинних стінок. Зокрема, резервна функція клітинних стінок сім'ядолей люпину зазначена у праці [16]. Вміст галактомананів, молярне співвідношення маноза : галактоза істотно змінювались при форму-

ТАБЛИЦЯ 1. Вплив гібереліну і хлормекватхлориду на вміст целюлози в знежиреному матеріалі сім'ядолей насіння гарбуза сорту Мозолівський 15 за умов фото- і скотоморфогенезу

Варіант	Вміст целюлози, % сухої речовини		Ступінь полімеризації	
	Фотоморфогенез	Скотоморфогенез	Фотоморфогенез	Скотоморфогенез
Контроль	20,4±0,43	22,9±0,35	470	460
ГК ₃ , 150 мг/л	17,5±0,68*	22,6±0,82	450	460
ССС, 0,25 %	18,7±0,38*	20,1±0,24*	460	470

Примітка: тут і в табл. 2* — різниця вірогідна за $p \leq 0,05$.

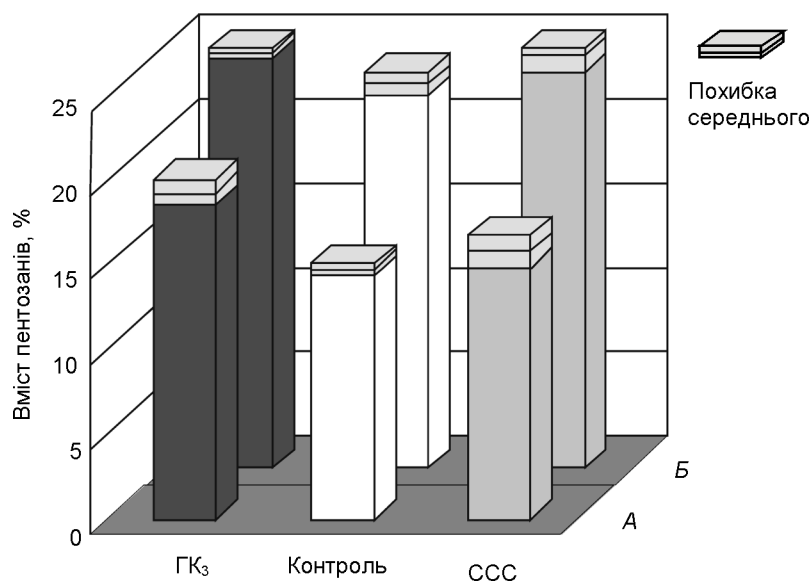


Рис. 1. Вплив гібереліну (ГК₃, 150 мг/л) і хлормекватхлориду (ССС, 0,25 %) на вміст пентозанів у знежиреному матеріалі сім'ядолей гарбуза за умов ското- (А) і фотоморфогенезу (Б)

ванні і проростанні насіння козлятнику (*Galega orientalis* L.) [16]. Вміст полісахаридів у клітинних стінках алейронового шару насіння ячменю в процесі проростання зменшувався в 3—10 разів [19]. Застосування гібереліну для стимуляції проростання насіння кавового дерева призводило до різкого зменшення вмісту полісахаридів та інтенсивнішого їх використання як резервної речовини [20].

Отримані нами результати досліджень підтвердили істотну різницю вмісту пентозанів у клітинних стінках сім'ядолей у процесі проростання на світлі і в темряві за дії гібереліну й ретарданту (рис. 1). За умов скотоморфогенезу вміст пентозанів у всіх варіантах дослідження був значно нижчим, ніж у фотоморфних рослин. На нашу думку, це пов'язано з тим, що у проростків гарбуза, які розвивалися на світлі, в цей час формувались повноцінні хлоропласти і вони переходили на автотрофний спосіб живлення. У проростків, які розвивалися за програмою скотоморфогенезу, тривала гетеротрофна фаза росту, що й виявилось у максимальній утилізації всіх резервів клітини, зокрема пентозанів. У фотоморфних рослин відмінностей між варіантами обробки практично не було, у скотоморфних — нижчий вміст пентозанів був у рослин, оброблених ССС.

Процеси, які відбуваються в полісахаридах клітинних стінок, найповніше вивчено в період дозрівання плодів. Встановлено, що деградація структур клітинної стінки при дозріванні плодів і ягід починається з ферментативного розщеплення поліуронових полімерів [8]. Визначення молекулярної маси пектинів ягід малини протягом тижня після обробки насаджень 0,1 %-м розчином кампозану М показало, що поліуронідний комплекс піддається значним змінам: при дозріванні ягід середня молекулярна маса пектинів знижувалась, причому в дослідному варіанті процес відбувався швидше [5]. Виявлено зменшення масової частки високомолекулярних фракцій пектинів у досліді порівняно з контролем. На думку автора, це вказує на переважне розщеплення полігалактуронозою високомолекулярних фракцій пектинів при дозріванні, що, очевидно, є однією з причин переходу протопектину в розчинний пектин. Отже,

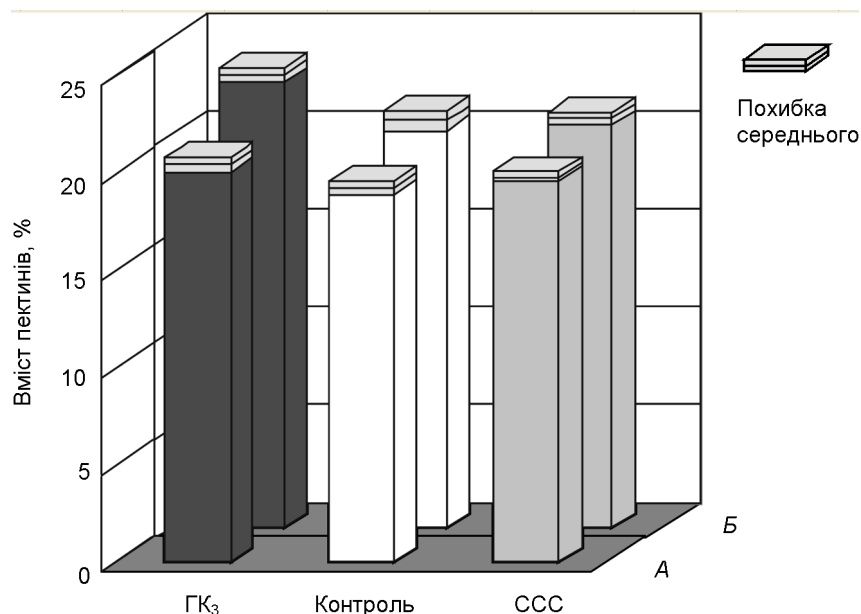


Рис. 2. Вміст пектинів у знежиреному матеріалі сім'ядолей гарбуза сорту Мозолівський 15 під впливом гібереліну (ГК₃, 150 мг/л) і хлормекватхлориду (ССС, 0,25 %) за умов фото- (А) і скотоморфогенезу (Б)

вивчення молекулярної структури поліуронідів (пектинів) дає змогу повніше схарактеризувати участь пектинів в обмінних процесах.

У результаті вивчення вмісту пектинів у знежиреному матеріалі сім'ядолей гарбуза за умов проростання на світлі і в темряві під впливом гібереліну й ретарданту ми встановили, що за умов скотоморфогенезу, за якого ростові процеси пришвидшені, вміст цих полісахаридів дещо збільшувався (рис. 2). На нашу думку, це не дає підстав стверджувати, що зазначені речовини використовуються як резервні сполуки. Привертає увагу той факт, що порівняно із сухим насінням, в якому співвідношення вмісту целюлози й пектинів становило 1,3, у різних варіантах дослідження воно зменшувалось і становило 0,9—1,1. На нашу думку, це також свідчить про зміни в клітинних стінках сім'ядолей під час проростання насіння, зокрема про збільшення вмісту в них пектинів.

Відомо, що властивості пектинів істотно залежать від ступеня етерифікації молекул. Вивчивши фізико-хімічні константи пектинів дозріваючих ягід вишні, Тищенко та співавт. [10] дійшли висновку, що в період дозрівання плодів кількість вільних карбоксильних груп зростає як у розчинних пектинах, так і протопектині. Проте в іншому дослідженні було встановлено, що ступінь етерифікації і розподіл метоксильних груп у пектинових речовинах яблук під час їх старіння істотно не змінювались за значного зниження ступеня полімеризації [21].

Проведений нами аналіз щодо вмісту карбоксильних груп і визначення молекулярної маси зразків пектинів за варіантами дослідження підтвердили істотні фізико-хімічні зміни цих полісахаридів під час проростання насіння в темряві і на світлі за впливу гібереліну й ретарданту (табл. 2). Пектин, виділений із сім'ядолей насіння гарбуза у стані спокою, і пектин, виділений із сім'ядолей в процесі росту за дії вивчених чинників, містили різні кількості функціональних карбоксильних груп. При цьому скотоморфні рослини характеризувались меншим вмістом у пектині

ТАБЛИЦЯ 2. Молекулярна маса, вміст карбоксильних груп і ступінь етерифікації пектину сім'ядолей гарбуза сорту Мозоліївський 15 під впливом хлормекватхлориду і гібереліну за умов проростання на світлі і в темряві

Варіант	Вміст COOH, мг-екв/г			Ступінь етерифікації, %	Молекулярна маса, Д
	загальних	вільних	зв'язаних		
Сухе насіння	6,19±0,15	1,89±0,03	4,3±0,12	69,5	11 500
Фотоморфогенез					
Контроль	5,31±0,11	1,19±0,04	4,12±0,17	77,6	14 300
ГК ₃ , 150 мг/л	5,45±0,13	1,44±0,05*	4,01±0,08	73,6	14 500
ССС, 0,25 %	5,21±0,26	1,12±0,01	4,09±0,25	78,5	11 700
Скотоморфогенез					
Контроль	5,82±0,18*	0,99±0,04*	4,83±0,18*	82,9	14 700
ГК ₃ , 150 мг/л	5,94±0,14	0,92±0,02	5,02±0,12	84,5	22 700
ССС, 0,25 %	5,44±0,16	0,89±0,02	4,55±0,14	83,6	12 900

вільних, але більшим вмістом загальних і зв'язаних карбоксильних груп порівняно із фотоморфними. Отже, в темряві, за вищих темпів використання запасних речовин на ростові процеси, ступінь етерифікації пектинів зростає (див. табл. 2). Ці дані мають важливе значення для з'ясування конформаційних змін макромолекул пектину в клітинних стінках під час проростання насіння. Відомо, що з підвищенням ступеня етерифікації карбоксильних груп структура клубка переходить у структуру спіралі, збільшується об'єм макромолекули [9]. Згідно з отриманими даними, підвищення ступеня етерифікації пектинів сім'ядолей у темряві супроводжується істотним зниженням вмісту пентозанів клітинних стінок, що, на нашу думку, свідчить про їх часткове включення в структуру молекул поліуроніду. Саме цим, очевидно, і пояснюється збільшення молекулярної маси пектинів у досліді за умов скотоморфогенезу. При цьому у варіанті найінтенсивнішого росту (обробка гібереліном, скотоморфогенез) виявлено пектини з найбільшою молекулярною масою.

Збільшення вмісту пектинів у клітинних стінках сім'ядолей та їх молекулярної маси в період проростання є важливими процесами, оскільки пектини мають високу водоутримувальну здатність і тим самим оптимізують водний режим клітин у період проростання насіння.

Отже, процес проростання насіння гарбуза супроводжується істотною перебудовою полісахаридного комплексу клітинних стінок сім'ядолей. Крім основних запасних речовин (олія, азотовмісні сполуки) як резервна речовина використовуються пентозани клітинних стінок. Змінюється також конформація і частково збільшується молекулярна маса пектинів. Процес посилюється в умовах скотоморфогенезу в результаті інтенсивного росту проростків за відсутності автотрофного живлення і, як наслідок, глибшої утилізації резервів донора пластичних речовин — сім'ядолей.

1. Ахунов А.А., Умаров А.А., Ибрагимов Ф.А. Влияние ретарданта пикса и дефолианта дропа на биосинтез белков в листьях и волокне хлопчатника // Агрехимия. — 2005. — № 9. — С. 43–50.
2. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений. — 3-е изд., перераб., доп. — Л.: Агропромиздат, ЛО, 1987. — 430 с.

3. *Кахана Б.М., Кривилева Н.И.* Превращения гликопротеинового комплекса клеточных стенок при размягчении плодов // Тр. Всесоюз. конф. «Теоретическая и прикладная карпология». — Кишинев: Штиинца, 1989. — С. 123—124.
4. *Киризий Д.А.* Фотосинтез и рост растений в аспекте донорно-акцепторных отношений. — Киев: Логос, 2004. — 191 с.
5. *Курьята В.Г.* Изменения в полисахаридном комплексе клеточных стенок и химическом составе ягод малины под воздействием донора этилена кампозана // Физиология и биохимия культ. растений. — 1991. — **23**, № 2. — С. 164—169.
6. *Лобанова И.Е., Анулов О.В., Шербухин В.Д.* Галактоманнаны *Galega orientalis* Lam. в процессе созревания и прорастания семян // Сибир. экол. журн. — 2007. — **14**, № 3. — С. 477—484.
7. *Лукин А.Л., Славгородский С.В., Котов В.В., Полянский К.К.* Исследование состава пектина методами кондукто- и потенциометрии // Вестн. РАСХН. — 2005. — № 4. — С. 85—88.
8. *Метлицкий Л.В.* Иммунологический контроль в жизни растений. — М.: Наука, 1987. — 70 с.
9. *Мухиддинов З.К.* Физико-химические аспекты получения и применения пектиновых полисахаридов: Автореф. дис. ... д-ра хим. наук. — Душанбе, 2003. — 51 с.
10. *Тищенко В.П., Трушкина В.П., Мисягина Л.А.* Биохимические исследования растительных тканей. — Саранск: Б.и., 1973. — С. 70—79.
11. *Целлюлоза и ее производные* / Ред. Н. Байклз, Л. Сегал. — М.: Мир, 1974. — Т. 2. — 509 с.
12. *Цыганкова В.А., Галкина Л.А., Мусатенко Л.И., Сытник К.М.* Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Гены фотоморфогенеза и регуляция их экспрессии светом // Биополимеры и клетка. — 2004. — **20**, № 6. — С. 451—471.
13. *Шур А.М.* Высокомолекулярные соединения. — М.: Высш. шк., 1981. — 656 с.
14. *Abeles F.B.* Role of cellulase in ethylene action // Ethylene: Physiol., Biochemistry and Practical Applications: Int. Conf. mark 90 Anniv. Discov. Ethylene D.N. Neljubov (1866—1926) Moscow-Pushckino-St. Petersburg, July 16—21: Abstr. — Pushckino, 1992. — P. 6—7.
15. *Alabady D., Gil I., Blazques M.A., Garcia-Martinez I.L.* Gibberellins repress photomorphogenesis in darkness // Plant Physiol. — 2004. — **134**. — P. 1050—1057.
16. *Craushau L.A., Grant R.J.I.* Change of cell walls polysaccharides in connection with a sprout development and mobilization of reserves in cotyledons of *Lupinus angustifolius* sort Unicrop // Planta. — 1984. — **160**, N 5. — P. 449—454.
17. *Darvill A., Albersheim P., Neil M.* Structure and function of plant cell wall polysaccharides // J. Cell Sci. — 1985. — **78**, suppl. 2. — P. 203—217.
18. *Groot S.P., Kielizewska-Rokicka B., Vermer E., Karssen C.M.* Gibberellin-induced hydrolysis of endosperm cell walls in gibberellin-deficient tomato seed prior to radicle protrusion // Planta. — 1988. — **174**, N 4. — P. 500—504.
19. *Morall P., Briggs D.E.* Changes in cell wall polysaccharides of germinating barley grains // Phytochemistry. — 1978. — **17**, N 9. — P. 1495—1502.
20. *Takaki M., Dietrich S.M.C.* Effect of GA₃ and light on polysaccharide levels and metabolism in germinating coffee seeds // J. Exp. Bot. — 1980. — **31**, N 125. — P. 1643—1949.

Отримано 03.02.2014

ИЗМЕНЕНИЯ В ПОЛИСАХАРИДНОМ КОМПЛЕКСЕ КЛЕТОЧНЫХ СТенок
СЕМЯДОЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ТЫКВЫ ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ
ДОНОРНО-АКЦЕПТОРНЫХ ОТНОШЕНИЙ В ПРОЦЕССЕ ПРОРАСТАНИЯ

И.В. Попроцкая

Винницкий государственный педагогический университет им. М. Коцюбинского

Изучали влияние гиббереллина (ГК₃) и хлормекватхлорида на полисахаридный комплекс клеточных стенок семядолей тыквы в процессе прорастания в условиях ското- и фотоморфогенеза. Установлено, что процесс прорастания семян тыквы сопровождается существенной перестройкой полисахаридного комплекса. В качестве резервного вещества используются пентозаны клеточных стенок. Изменяется конформация и увеличивается молекулярная масса пектинов вследствие протекания процессов этерификации карбоксильных групп этих полисахаридов. Процесс усиливается в условиях скотоморфогенеза в результате интенсивно-

го роста проростков при отсутствии автотрофного питания и, как следствие, более глубокой утилизации резервов донора пластических веществ — семядолей.

CHANGES IN POLYSACCHARIDE COMPLEX OF CELL WALLS OF THE PUMPKIN SEEDLINGS COTYLEDONS UNDER DIFFERENT LEVEL OF SOURCE-SINK RELATIONS DURING GERMINATION

I.V. Poprotska

M. Kotsyubynsky Vinnytsia State Pedagogical University
32 Ostrozhsky St., Vinnytsia, 21100, Ukraine

The effect of gibberellin (GA_3) and chlormequate chloride on polysaccharide complex of cell walls of the pumpkin cotyledons during germination in conditions scoto- and photomorphogenesis has been studied. It was established that the process of pumpkin seed germination is accompanied by significant restructuring of the polysaccharide complex. As a reserve substance there are used pentosans of cell walls. Pectin conformation changed and its molecular weight increased due to process of esterification of the carboxyl groups. The process has been intensified in conditions of scotomorphogenesis as a result of intensive growth of seedlings in the absence of autotrophic nutrition and a deeper utilization of reserves in cotyledons — a source of plastic substances.

Key words: growth substances, polysaccharides, seed germination, source-sink relations.