https://doi.org/10.15407/frg2018.06.484
УДК 581.13:577.15:631.81.095.337

# МАЛАТДЕГІДРОГЕНАЗНА СИСТЕМА ЗЕЛЕНИХ ЛИСТКІВ РОСЛИН СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР ЗА НЕСТАЧІ МАНГАНУ Й ПОЗАКОРЕНЕВОГО ПІДЖИВЛЕННЯ МІКРОЕЛЕМЕНТОМ

**І.П. ЯКУБА, О.Б. ПАУЗЕР**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова*
*65058 Одеса, пров. Шампанський, 2*
*e-mail: irinayakuba@yahoo.com*

Вивчено зміни активності малатдегідрогеназ і малік-ензимів зелених листків та ізоферментного спектра малік-ензимів рослин озимої пшениці, кукурудзи, гороху, огірків, томатів за різних умов манганового живлення. Для підживлення мікроелементом застосовували передпосівне намочування насіння й обробляли листки рослин розчином сульфату мангану концентрацією 0,05 та 0,10 %. Вміст мангану в рослинних тканинах визначали методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії, активність ферментів малатдегідрогеназної системи — у гомогенатах листків. Встановлено, що за дефіциту мангану кількість цього мікроелемента в листках рослин зменшувалась у 5—10 разів порівняно з контролем, у варіантах із позакореневим підживленням — збільшувалась в 1,5—2 рази. Відповідно змінювався вміст цукрів, цукрози, білка та хлорофілу. Вивчено вплив рівня забезпеченості рослин манганом на активність НАД- і НАДФ-залежних малатдегідрогеназ, НАД- і НАДФ-малік-ензимів, ізоферментний спектр ферментів НАД- і НАДФ-малік-ензимів. За стресових умов дефіциту мангану в $C_3$-рослин активність малік-ензиму зменшувалась у 5—7 разів, у кукурудзи — в 2 рази. За позакореневого підживлення манганом активность ферменту зростала на 5—20 %. Встановлено, що рівень манганового живлення істотно впливає на ізоферментний спектр малік-ензимів. Отримані результати вказують на можливість використання змін активності ферментів малатдегідрогеназної системи, зокрема НАДФ-МЕ, для діагностики забезпеченості рослин манганом.

*Ключові слова:* манган, сільськогосподарські культури, підживлення, дефіцит, малатдегідрогеназа.

Малатдегідрогеназа — один із найпоширеніших розчинних біополімерів у природі після рибулозо-1,5-*біс*-фосфаткарбоксилази. Її концентрація в клітинах мікроорганізмів, тварин і насамперед рослин значно перевищує вміст інших найважливіших для організму ферментів. Малатдегідрогеназну активність має низка білків, які об'єднують під назвою «малатдегідрогеназна система» [1]. Остання здійснює в рослинах спряження окремих метаболічних процесів,

© І.П. ЯКУБА, О.Б. ПАУЗЕР, 2018

пов'язаних зі спільним субстратом — малатом. Окиснювальний метаболізм яблучної кислоти в рослинах зумовлений функціонуванням двох оксидоредуктаз: НАД-залежної малатдегідрогенази (НАД-МДГ, КФ 1.1.1.37) і НАДФ-залежної малатдегідрогенази (НАДФ-МДГ, КФ 1.1.1.82), а також двох декарбоксилаз: НАД-малік-ензиму (НАД-МЕ, КФ 1.1.1.39) і НАДФ-малік-ензиму (НАДФ-МЕ, КФ 1.1.1.40) [2].

Під час адаптації обміну речовин до змін умов зовнішнього середовища організм застосовує стратегію регуляції активності ферментного апарату клітини, яка ґрунтується на механізмах, що діють або на надмолекулярному, або на функціонально-молекулярному рівні організації білків. У здійсненні цієї стратегії важливими є білки, здатні реагувати на зміну мікро- й макрооточення, а також чутливі до різноманітних медіаторів. Наявний фактичний матеріал дає підставу вважати, що малатдегідрогенази належать до такої групи регуляторних білків [3].

Різні форми малатдегідрогеназ утворюють у клітині систему ферментів, які не тільки беруть участь у головних метаболічних процесах в організмі, а й унаслідок функціонування у човникових механізмах, відіграють важливу роль у спряженні й перенесенні енергії та відновних еквівалентів між компартментами. За наявності цих характеристик малатдегідрогеназна система рослинної клітини здатна виконувати функцію вторинної сигнальної системи, яка переносить між компартментами важливу інформацію про її енергетичний стан, зв'язує і регулює метаболічні процеси. Показано, що активність малатдегідрогеназ у компартментах клітини визначає загальну швидкість метаболічних процесів у рослині [4]. Отже, перебіг найважливіших метаболічних процесів рослин залежить від функціонального стану та характеристик ферментів малатдегідрогеназної системи.

Участь малатдегідрогеназної системи в регуляції метаболічних процесів рослин потребує наявності в клітині відповідних механізмів контролю параметрів і функціонального стану системи. Такий контроль здійснюється шляхом впливу на всіх функціональних рівнях її організації — від гормонального до молекулярного. Механізми регуляції, які діють на цих рівнях, можна розділити на три великі групи: гормонально-генну, надмолекулярну і функціонально-молекулярну (або метаболітну). До першої групи належать механізми, які безпосередньо не впливають на функціональний стан вже існуючих ферментів, але здатні змінювати їх концентрацію або модифікувати співвідношення між окремими білками та їх молекулярними формами. Це такі механізми, як гормональний, генетичний, трансляційний, посттрансляційний процесинг, транспорт, компартменталізація ізоферментів та їхніх попередників. До другої групи входять механізми, безпосередньо пов'язані з першою групою, оскільки від процесингу, транспорту й компартменталізації субодиниць наприкінці залежить, з якими структурами чи молекулами мають вступати у взаємодію ферменти. До цієї групи належать процеси, які впливають на утворення коротко- чи довготривалих комплексів молекул одного й того самого або різних білків, а також на їх адсорбцію на поверхні внутрішньоклітинних мембран чи структур. До третьої

групи входять механізми, здатні змінювати функціональний стан молекул ферментів: регуляція активності ферментів за допомогою інгібіторів, активаторів, іонів, інших низькомолекулярних сполук, ковалентної модифікації їхніх молекул, pH, алостеризму, агентів спряження (НАД+/НАД(Н), АТФ/АДФ) та ін. [1].

У зв'язку з контролем і регуляцією на різних рівнях організації ферменти малатдегідрогеназної системи відіграють роль ключового компонента в біорегуляції метаболічних процесів. До чинників, здатних викликати адаптивні зміни в клітинному метаболізмі, належать ендогенні — перехід до чергових фаз онтогенезу та екзогенні — коливання температури, фотоперіодизм, добові коливання освітлення, вологість повітря, засоленість ґрунту, аерація тощо [4—6].

Накопичений фактичний матеріал підтвердив, що активність та ізоферментний спектр малатдегідрогеназ у рослинному організмі визначаються його видовими і сортовими ознаками, типом основного обміну. Так, максимальна активність МДГ спостерігається у тканинах, які швидко ростуть, та у клітинах запасливих органів, з яких утилізуються запасні речовини, при цьому активність у паростках високоолійних рослин вища, ніж у низькоолійних і пов'язана з β-окисненням жирних кислот. Між інтенсивністю метаболічних процесів і кількістю молекулярних форм МДГ існує кореляція, найбільше їх міститься в органах, де відбуваються інтенсивні метаболічні процеси, тобто у молодих листках і запасливих органах [7].

Чинниками зовнішнього середовища, які впливають на активність та якісний склад малатдегідрогеназної системи, можуть бути високі й низькі температури, освітлення, нестача води та ін. Ліпше за все на сьогодні вивчено вплив освітлення на малатдегідрогенази. Водночас однозначної відповіді на питання про реакцію різних малатдегідрогеназ на рівень мінерального живлення рослин, зокрема на ступінь забезпеченості манганом, немає.

Оскільки іони двовалентних металів, у тому числі мангану, є кофакторами малік-ензимів [8], метою цього дослідження було вивчення змін активності малатдегідрогеназ і малік-ензимів зелених листків сільськогосподарських культур та ізоферментного спектра малік-ензимів за різних умов манганового живлення.

## Методика

Стан малатдегідрогеназної системи за дефіциту мангану й оптимізації манганового живлення досліджували у вегетаційному досліді на овочевих і зернових культурах. Об'єктами дослідження були рослини озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.), кукурудзи (*Zea mays* L.), гороху (*Pisum sativum* L.), огірків (*Cucumis sativus* L.), томатів (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Рослини вирощували в теплиці кафедри ботаніки ОНУ за контрольованих умов температури (20—23 °С) та освітлення при 16-годинному світловому періоді (додаткове освітлення люмінесцентними фітолампами OSRAM 18W). Застосовували передпосівне намочування насіння й обробку листків рослин розчинами сульфату мангану концентрацією 0,05 та 0,10 % (контроль — необроблені рослини, +Mn — позакореневе підживлення мікроелемен-

том). Штучний дефіцит мангану в рослин створювали у вегетаційному досліді в піщаній культурі на Лонг-Аштонському розчині з мікроелементами [9] (контроль — повна поживна суміш, —Mn — вирощування рослин на суміші без мангану). Рослинний матеріал аналізували у віці 45 діб на фоні фізіологічних ознак стимулювального впливу манганового підживлення й манганового дефіциту у вигляді міжжилкового хлорозу. Повторність дослідів — триразова, кількість рослин у повторності — 100, проба змішана, об'єм вибірки розрахований за загальноприйнятими методиками [10].

Вміст мангану в рослинних тканинах визначали методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії на спектрофотометрах фірми VARIAN Spectr AA-220 (полуменевий варіант) та Spectr AA-800 (варіант атомізації у графітовій печі). Наважки рослинного матеріалу (0,3—0,5 г) розкладали азотною кислотою. Вміст мангану розраховували у міліграмах на 1 кілограм абсолютно сухої речовини [11].

Активність ферментів малатдегідрогеназної системи визначали у гомогенатах листків за Магомедовим і Тищенко [12] спектрофотометрично при довжині хвилі 340 нм за зменшенням оптичної густини НАД(Н), НАДФ(Н) для НАД-МДГ і НАДФ-МДГ та за її збільшенням — НАД, НАДФ — для НАД-МЕ і НАДФ-МЕ. Результати виражали у мікромолях НАДФ(Н) за хвилину на 1 г сирої речовини (загальна активність) або на 1 мг білка (питома активність). Вміст білка визначали методом Лоурі, вміст цукрів — за Бертраном, хлорофілу й каротиноїдів — у 80 %-му ацетоні [13]. Електрофоретичні дослідження проводили методом Девіс [14] у 10 %-му ПААГ. Специфічне проявлення ферментів здійснювали в нітросиньому тетразолії за наявності відповідних кофакторів за Магомедовим і Тищенко.

## Результати та обговорення

В умовах вегетаційного досліду ми створювали умови штучного дефіциту мангану — вирощували рослини без нього та оптимізованого манганового живлення — проводили передпосівну обробку насіння та обробку листків рослин цим мікроелементом. У варіантах без мангану в рослин виявились класичні ознаки манганового хлорозу, відставання від контрольних за ростовими показниками. У варіантах з обробкою манганом протягом досліду відмічали поліпшення ростових показників відносно контролю, що й очікували, взявши до уваги результати, викладені у попередніх дослідженнях [15]. На момент цвітіння у віці шести тижнів за дефіциту мангану біомаса рослин огірків знижувалась втричі, томатів — на 47 %, гороху — на 36,5, пшениці — на 14, кукурудзи — на 10 %. За підживлення мікроелементом біомаса рослин томатів і огірків підвищувалась на 10 %, гороху — на 6,5, пшениці — на 8, кукурудзи — на 7 %.

Виявлено, що в усіх культур у віці 6 тижнів вміст фотосинтетичних пігментів у варіантах без мангану істотно знижувався, а в оброблених варіантах — зростав (табл. 1). За вмістом хлорофілів на дефіцит мангану сильніше відреагували рослини огірків і томатів. У листках огірків вміст хлорофілів *a*, *b* та їх суми знижувався відповідно на 63, 73 і 66 %, у листках томатів — на 34, 52 і 38 %, у листках гороху —

*ТАБЛИЦЯ 1. Вміст пігментів у листках рослин за різної забезпеченості манганом, мг/г*

| Варіант | | Хлорофіл *a* | Хлорофіл *b* | Сума хлорофілів | Каротиноїди |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Огірки | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 0,405±0,005 | 0,211±0,008 | 0,621±0,012 | 0,309±0,005 |
| | –Mn | 0,150±0,003*** | 0,057±0,005*** | 0,212±0,022*** | 0,252±0,007* |
| Підживлення манганом | Контроль | 0,413±0,007 | 0,215±0,005 | 0,625±0,006 | 0,351±0,001 |
| | +Mn | 0,432±0,005* | 0,253±0,006** | 0,681±0,008* | 0,360±0,003* |
| | | | Томати | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 0,556±0,017 | 0,256±0,015 | 0,797±0,015 | 0,525±0,007 |
| | –Mn | 0,372±0,011*** | 0,122±0,012*** | 0,495±0,015** | 0,380±0,005*** |
| Підживлення манганом | Контроль | 0,604±0,008 | 0,283±0,003 | 0,881±0,013 | 0,534±0,003 |
| | +Mn | 0,639±0,007* | 0,309±0,007* | 0,950±0,012** | 0,552±0,007* |
| | | | Кукурудза | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 0,560±0,007 | 0,269±0,013 | 0,830±0,015 | 0,421±0,007 |
| | –Mn | 0,421±0,011*** | 0,269±0,005 | 0,685±0,013*** | 0,313±0,005*** |
| Підживлення манганом | Контроль | 0,558±0,007 | 0,255±0,007 | 0,810±0,010 | 0,455±0,012 |
| | +Mn | 0,571±0,005 | 0,310±0,005** | 0,881±0,009** | 0,463±0,005 |
| | | | Пшениця | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 0,519±0,007 | 0,376±0,005 | 0,895±0,007 | 0,399±0,007 |
| | –Mn | 0,402±0,008*** | 0,213±0,009*** | 0,621±0,015*** | 0,201±0,005*** |
| Підживлення манганом | Контроль | 0,591±0,009 | 0,308±0,005 | 0,901±0,022 | 0,401±0,005 |
| | +Mn | 0,603±0,005 | 0,329±0,007* | 0,920±0,009 | 0,395±0,004 |
| | | | Горох | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 0,705±0,020 | 0,383±0,008 | 1,075±0,025 | 0,487±0,011 |
| | –Mn | 0,427±0,016*** | 0,226±0,005*** | 0,645±0,019*** | 0,255±0,015*** |
| Підживлення манганом | Контроль | 0,727±0,005 | 0,365±0,006 | 1,090±0,011 | 0,452±0,007 |
| | +Mn | 0,800±0,010** | 0,422±0,005** | 1,219±0,017** | 0,491±0,006* |

Примітка. Тут і в табл. 2, 3: * вірогідність різниці з контролем 95 %; ** — 99; *** — 99,9 %.

на 39, 41 та 40 %, у листках пшениці — на 23, 41 і 40 %. Найменше дефіцит мангану вплинув на вміст хлорофілу в листках кукурудзи: вміст хлорофілу *a* знизився на 25 %, хлорофілу *b* — не змінився, сума хлорофілів була меншою на 17,5 %. За дефіциту мангану вміст каротиноїдів знизився відносно контролю в рослин огірків на 18 %, томатів — на 28, кукурудзи — на 26, пшениці — на 50, гороху — на 48 %.

За підживлення манганом вміст хлорофілів *a*, *b* та їх суми в листках огірків зростав відповідно на 5, 18 і 9 %, в листках томатів — на 6, 9 і 8 %, гороху — на 10, 16 і 12 %. У листках кукурудзи й пшениці не відмічено підвищення вмісту хлорофілу *a*, вміст хлорофілу *b* та суми хлорофілів збільшувався відповідно на 22 і 9 та 7 і 2 %. Вміст каротиноїдів за манганового підживлення в листках огірків і

томатів зростав на 3 %, гороху — на 9 %, кукурудзи і пшениці — не змінювався.

За накопиченням біомаси і вмістом фотосинтетичних пігментів досліджені культури можна розмістити в такий ряд за чутливістю щодо рівня забезпеченості манганом: огірки > томати $\geq$ горох > пшениця $\geq$ кукурудза. Ці результати узгоджуються з даними дослідників про більшу чутливість до нестачі мангану дводольних порівняно зі злаками та гороху порівняно з кукурудзою [16, 17].

Біохімічним аналізом листків рослин огірків, томатів, гороху, кукурудзи та пшениці встановлено, що за дослідних умов у варіанті з дефіцитом мангану кількість цього мікроелемента зменшувалась у 5—10 разів порівняно з контролем, у варіантах із позакореневим підживленням — збільшувалась в 1,5—2 рази (табл. 2). Зміни вмісту мангану такого порядку спостерігали й інші дослідники в листках різних рослин за їх вирощування на дефіцитному за манганом поживному середовищі та за підживлення цим мікроелементом [5, 18].

У нашому досліді вміст мангану за його дефіциту в рослин огірків знизився у 5 разів, томатів — у 8, кукурудзи — у 9, пшениці — у 6, гороху — у 7,5 раза. Отримані результати привертають увагу до високої ефективності метаболічного використання мікроелемента за

*ТАБЛИЦЯ 2. Вміст мангану, білка і цукрів у зелених листках рослин за дефіциту мангану й підживлення цим мікроелементом*

| Культура | Варіант | | Манган, мкг/г | Білок, мг/г | Цукри, % |
|---|---|---|---|---|---|
| Огірки | Дефіцит мангану | Контроль | 48,7±0,11 | 14,5±0,11 | 12,1±0,09 |
| | | –Mn | 9,94±0,04*** | 7,03±0,15*** | 4,56±0,10*** |
| | Підживлення манганом | Контроль | 55,7±1,33 | 15,1±0,09 | 13,7±0,02 |
| | | +Mn | 117,2±3,56*** | 16,3±0,13*** | 14,6±0,11*** |
| Томати | Дефіцит мангану | Контроль | 68,2±1,11 | 18,9±0,32 | 13,3±0,10 |
| | | –Mn | 8,71±0,53*** | 4,75±0,51*** | 11,9±0,20** |
| | Підживлення манганом | Контроль | 103,5±2,14 | 36,7±1,63 | 13,8±0,12 |
| | | +Mn | 198,8±0,73*** | 40,7±1,12* | 14,6±0,09** |
| Кукурудза | Дефіцит мангану | Контроль | 53,8±1,72 | 9,4±1,02 | 13,7±0,02 |
| | | –Mn | 5,75±0,94*** | 7,0±0,54* | 9,52±0,29*** |
| | Підживлення манганом | Контроль | 80,2±2,33 | 10,1±0,71 | 13,3±0,05 |
| | | +Mn | 160,5±9,01*** | 10,7±0,23 | 13,9±0,09* |
| Пшениця | Дефіцит мангану | Контроль | 37,3±0,52 | 28,9±1,32 | 14,7±0,03 |
| | | –Mn | 6,44±0,37*** | 15,9±1,22*** | 8,59±0,17*** |
| | Підживлення манганом | Контроль | 37,9±1,32 | 33,9±1,70 | 14,3±0,05 |
| | | +Mn | 112,4±2,51*** | 36,1±0,82 | 14,3±0,10 |
| Горох | Дефіцит мангану | Контроль | 43,8±0,53 | 31,1±2,4 | 13,0±0,29 |
| | | –Mn | 5,85±0,32*** | 20,4±1,23*** | 10,3±0,29** |
| | Підживлення манганом | Контроль | 60,5±4,12 | 44,9±0,70 | 13,1±0,05 |
| | | +Mn | 90,8±1,77*** | 50,3±1,94* | 13,0±0,07 |

*ТАБЛИЦЯ 3. Активність малатдегідрогеназ зелених листків рослин за контрольованих умов манганового живлення*

| Варіант | | НАД-МДГ | | НАДФ-МДГ | | НАД-МЕ | | НАДФ-МЕ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *1* | *2* | *1* | *2* | *1* | *2* | *1* | *2* |
| | | | | | Огірки | | | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 105,5±1,5 | 4,2±0,1 | 6,1±0,3 | 0,24±0,002 | 0,20±0,01 | 0,008±0,001 | 0,51±0,01 | 0,020±0,001 |
| | –Mn | 15,0±1,3*** | 1,7±0,1*** | 2,6±0,2*** | 0,22±0,001* | 0,07±0,02** | 0,006±0,001* | 0,04±0,003*** | 0,003±0,001*** |
| Підживлення манганом | Контроль | 210,4±11,7 | 8,4±0,4 | 6,8±0,1 | 0,28±0,01 | 0,30±0,01 | 0,012±0,001 | 0,68±0,02 | 0,027±0,001 |
| | +Mn | 297,9±8,7* | 11,0±0,3* | 7,5±0,2* | 0,29±0,01 | 0,39±0,01* | 0,015±0,001* | 0,82±0,02* | 0,030±0,001 |
| | | | | | Томати | | | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 90,0±1,4 | 2,4±0,4 | 4,5±0,3 | 0,12±0,010 | 0,19±0,01 | 0,005±0,001 | 0,19±0,01 | 0,005±0,001 |
| | –Mn | 19,2±1,2*** | 1,0±0,4* | 2,1±0,2** | 0,11±0,007 | 0,07±0,01** | 0,004±0,001 | 0,01±0,00*** | 0,000±0,001*** |
| Підживлення манганом | Контроль | 121,3±3,2 | 3,4±0,1 | 5,5±0.2 | 0,15±0,005 | 0,25±0,01 | 0,007±0,001 | 0,36±0,02 | 0,010±0,001 |
| | +Mn | 145,0±2,1*** | 3,6±0,1* | 6,2±0,2* | 0,15±0,005 | 0,28±0,01* | 0,007±0,001 | 0,48±0,03* | 0,012±0,000* |
| | | | | | Кукурудза | | | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 170,1±3,3 | 6,8±0,1 | 22,5±1,4 | 0,92±0,06 | 2,07±0,10 | 0,083±0,001 | 33,8±1,6 | 1,35±0,064 |
| | –Mn | 58,4±2,7*** | 2,9±0,1*** | 10,3±0,3*** | 0,51±0,02*** | 0,62±0,26*** | 0,031±0,002** | 13,2±3,2*** | 0,66±0,150*** |
| Підживлення манганом | Контр. | 217,5±2,9 | 7,5±0,1 | 32,2±1,3 | 1,11±0,04 | 3,05±0,15 | 0,105±0,002 | 42,9±1,3 | 1,48±0,041 |
| | +Mn | 252,8±1,9*** | 7,9±0,1* | 37,8±2,1* | 1,18±0,05 | 3,52±0,12* | 0,110±0,001* | 50,6±1,1*** | 1,58±-0,032* |
| | | | | | Пшениця | | | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 110,5±2,3 | 3,4±0,7 | 5,0±0,2 | 0,15±0,01 | 0,10±0,01 | 0,003±0,000 | 0,33±0,02 | 0,010±0,001 |
| | –Mn | 41,6±1,3*** | 1,9±0,7** | 3,2±0,1*** | 0,14±0,1 | 0,03±0,00*** | 0,001±0,00*** | 0,05±0,01*** | 0,002±0,001*** |
| Підживлення манганом | Контроль | 171,5±1,2 | 4,9±0,3 | 6,9±0,2 | 0,20±0,01 | 0,18±0,01 | 0,005±0,001 | 0,49±0,03 | 0,014±0,001 |
| | +Mn | 196,1±2,4** | 5,3±0,3 | 7,8±0,2** | 0,21±0,01 | 0,22±0,01* | 0,006±0,001 | 0,58±0,02* | 0,017±0,001* |

*Закінчення табл. 3*

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Горох | | | | | | | | |
| Дефіцит мангану | Контроль | 253,9±2,5 | 8,3±1,2 | 7,7±0,9 | 0,25±0,02 | 0,29±0,02 | 0,001±0,000 | 0,46±0,05 | 0,015±0,003 |
| | –Mn | 42,8±3,7*** | 2,1±0,5*** | 3,9±0,5* | 0,19±0,03* | 0,03±0,00*** | 0,000±0,000* | 0,04±0,01*** | 0,002±0,001*** |
| Підживлення манганом | Контроль | 287,9±5,6 | 6,4±0,5 | 8,5±0,6 | 0,19±0,01 | 0,13±0,02 | 0,003±0,000 | 0,22±0,02 | 0,005±0,001 |
| | +Mn | 377,7±2,8*** | 7,5±0,3* | 11±0,5* | 0,22±0,01* | 0,20±0,03* | 0,004±0,001* | 0,51±0,05*** | 0,010±0,001** |

Примітка. *1* – мкмоль НАД(Ф)/хв на 1 г сирої речовини; *2* – мкмоль НАД(Ф)Н/хв на 1 мг білка.

його низького вмісту рослинами кукурудзи та низької ефективності — рослинами огірків.

За дефіциту та оптимізованого манганового живлення відповідно зменшувались і зростали кількості цукрів та білка (див. табл. 2). Вміст білка і цукрів у листках мангандефіцитних рослин огірків знижувався відповідно на 52 і 62 %, томатів — на 75 та 11, кукурудзи — на 25 і 40, пшениці — на 45 і 42, гороху — на 36 та 21 %. У підживлених рослин огірків вміст білка зростав на 8 %, цукрів — на 7 %, у томатів — відповідно на 11 і 6 %. За підживлення цим мікроелементом вміст цукрів у листках кукурудзи збільшувався на 5 %, вміст білка у листках гороху — на 12 %. У пшениці ці показники не змінювались.

Основні біохімічні показники зелених листків рослин свідчать про вплив рівня манганового живлення на стан ферментних систем рослин, у тому числі малатдегідрогеназної системи. У зелених листках усіх досліджених рослин визначено активності чотирьох малатдегідрогеназ із різною коферментною специфічністю (табл. 3). Найактивнішою в усіх рослин є НАД-МДГ, яка перетворює оксалоацетат на малат. Згідно з літературними даними, для більшості рослин характерне кількісне домінування НАД-МДГ активності над іншими активностями, що пов'язано з важливою роллю ферменту в окиснювальному метаболізмі малату рослин [4].

Найнижчу активність у досліді виявили малік-ензими за винятком кукурудзи, де їх активність майже така ж висока (що типово для $C_4$-фотосинтезу [8]). Різні умови манганового живлення істотно вплинули на активність ферментів малатдегідрогеназної системи.

НАД-залежна малатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.37) є одним із найпоширеніших у природі ферментів, у рослин він міститься у хлоропластах, мітохондріях, цитозолі та мікротільцях. Фермент здійснює взаємоперетворення малату й оксалоацетату за наявності НАД(Н), виконує різноманітні біологічні функції в клітині. Ферментатив-

на реакція оборотна, причому рівновага зміщена в бік утворення малату. Фермент не потребує іонів металів [1, 7].

За дефіциту мангану в зелених листках досліджених рослин НАД-МДГ виявила загальну активність у 2,5—7 раза й питому — у 2—4 рази нижчу порівняно з контрольними рослинами (див. табл. 3). За підживлення манганом активність ферменту зростала. Сильніше відреагував на зміни манганового живлення горох, на другому місці — овочеві, відмінностей між злаками не виявлено, незважаючи на різні типи фотосинтетичного метаболізму ($C_3$ у пшениці й $C_4$ у кукурудзи). Отимані нами дані вказують на дуже високу, хоча й опосередковану, залежність активності ферменту від рівня манганового живлення, що може бути пов'язано зі змінами інтенсивності фотосинтезу й рівня вуглеводного обміну [1, 5], та підтверджено результатами щодо вмісту цукрів у листках рослин.

НАДФ-МДГ (КФ 1.1.1.82) є ферментом виключно рослинного походження, локалізований у хлоропластах, каталізує реакцію окиснення малату—відновлення оксалоацетату за наявності НАДФ(Н). Фермент каталізує реакцію і за наявності НАД(Н), але значно менш ефективно. Він бере участь у функціонуванні «малатного клапана» через оболонку хлоропласта. Його активність залежить від стану електронтранспортного ланцюга хлоропластів. НАДФ(Н), що утворюється, активно використовується у процесах фотосинтетичної асиміляції $CO_2$, тому зрозуміла важливість вивчення НАДФ-МДГ, активність якого може впливати на роботу головного шляху утворення органічної речовини в рослинах. Особливість НАДФ-МДГ — у його обов'язковому світлоактивуванні, пов'язаному з відновленням сульфгідрильних груп, та активуванні протеолізом. Фермент не потребує іонів металів [3, 7, 19].

НАДФ-МДГ у листках досліджених рослин був доволі активним, причому найактивнішим у кукурудзи, що може бути зумовлене великим динамічним фондом малату. Відомо, що разом із НАДФ-малік-ензимом НАДФ-МДГ, який синтезує яблучну кислоту в хлоропластах мезофілу, входить до циклу, який переносить відновник і $CO_2$ між двома асиміляційними тканинами за схемою кооперативного фотосинтезу $C_4$-рослин малатного типу.

За дефіциту мангану загальна активність ферменту знижувалась у середньому вдвічі, питома — на 7—10 %, крім кукурудзи, в якої його питома активність знизилась на 30 % (див. табл. 3). Такі зміни можливо пов'язані з інтенсивністю перебігу світлової фази фотосинтезу та кількістю відновних еквівалентів. Остання може знижуватись за уповільнення нециклічного транспорту електронів через нестачу активних центрів ФС II в умовах манганового дефіциту. Позакореневе підживлення мікроелементом супроводжувалось підвищенням загальної активності НАДФ-МДГ у досліді на 10—15 %, його питома активність зростала тільки в гороху. Деякі дослідники зазначають, що підвищення активності ферменту пришвидшує ростові процеси [20]. У нашому досліді підвищення активності НАДФ-МДГ сприяло росту рослин, вірогідно, внаслідок поліпшення стану фотосинтетичного

апарату, що підтверджено отриманими даними про збільшення вмісту пігментів.

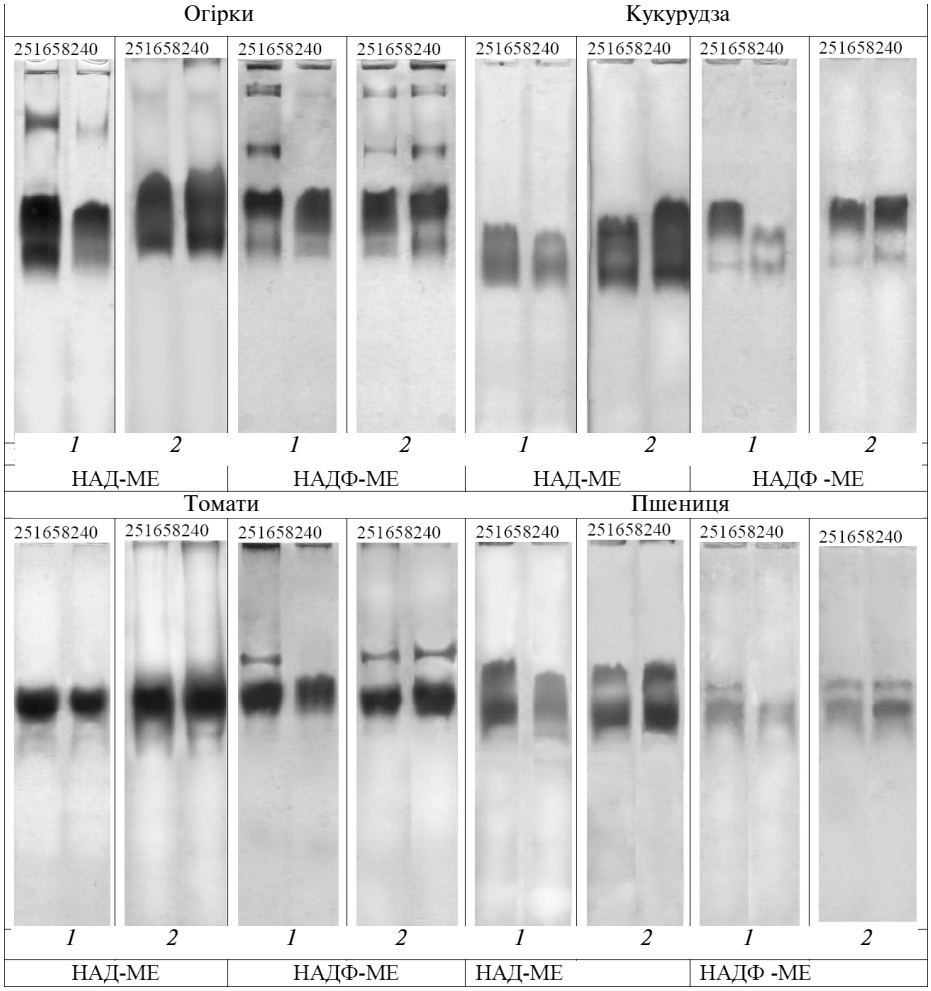
Активність НАД-малік-ензиму НАД-МЕ (КФ 1.1.1.39) у нашому досліді була мінімальною. Мінімальну активність НАД-МЕ в листках порівняно з іншими ферментами МДГ-системи зазначали й інші дослідники [2].

НАД-МЕ каталізує реакцію декарбоксилювання малату, але не здатний декарбоксилювати екзогенний оксалоацетат. Фермент локалізований у мітохондріях і виконує анаплеротичну функцію (поповнює запас проміжних продуктів ЦТК). Це особливо важливо для рослин, в яких гліколіз відіграє значно меншу роль в утворенні енергії та вуглецевих скелетів для біосинтезу амінокислот. У такому разі НАД-МДГ-декарбоксилювальна (НАД-МЕ) починає процес використання великих резервів органічних кислот (переважно малату й цитрату), які є в багатьох рослинах, а також відіграє ключову роль у забезпеченні вуглекислим газом відновного пентозофосфатного циклу в $C_4$-рослин НАД-малатної групи. Реакція абсолютно залежить від наявності іонів металів. Активність ферменту з $C_4$-рослин абсолютно залежить від наявності іонів мангану і не може бути визначена за наявності іонів магнію [7].

За дефіциту мангану в нашому досліді загальна активність НАД-МЕ в культур знижувалась у середньому втричі, питома активність найбільше знижувалась у злаків, особливо в кукурудзи. Це може бути пов'язано з тим, що в кукурудзи фермент утилізує великі резерви малату і цитрату. За підживлення мікроелементом загальна й питома активності НАД-МЕ зростали на 7—30 %. Отже, виявлено високу залежність активності ферменту від рівня забезпеченості рослин манганом, коефіцієнт кореляції між цими показниками становить 0,93—0,99.

НАДФ-МЕ (КФ 1.1.1.40) є абсолютно залежним від наявності іонів мангану. У $C_3$-рослин це нефотосинтетичний фермент, має хлоропластну й цитозольну локалізацію. НАДФ-МЕ підтримує біосинтез лігніну під час захисних реакцій. Найактивніший він у тканинах з великою швидкістю біосинтетичних процесів, постачає відновні еквіваленти для синтезу амінокислот і флавоноїдів. Для проростаючого насіння різних культур доведено участь МЕ з пластид у біосинтезі ліпідів за допомогою постачання пірувату і НАДФН для синтезу жирних кислот. За нестачі $CO_2$ зареєстровано підвищення активності МЕ у хлоропластах, який за властивостями відповідав $C_3$-типу, але брав участь у $C_4$-подібному фотосинтезі з високим рівнем декарбоксилювання малату й постачанням $CO_2$ на Рубіско. У $C_4$-рослин НАДФ-МЕ — це ключовий фермент циклу Хетча—Слека, він забезпечує вуглекислим газом і НАДФ(Н) цикл Кальвіна та щавелевооцтовою і піровиноградною кислотами — синтез амінокислот [8, 19—21].

У дослідних стресових умовах дефіциту мангану, на відміну від стресів, зумовлених іншими чинниками, які супроводжуються зростанням активності ферменту [6], ми спостерігали дуже значне зниження активності НАДФ-МЕ. За нестачі мангану у листках $C_3$-рослин вивчених культур загальна активність малік-ензиму знижувалась у 10—20 разів, питома — у 5—7 разів. У кукурудзи це зниження менш істотне.




Зимограми малік-ензимів зелених листків рослин за контрольованих умов манганового живлення:

*1* — контроль, —Mn (дефіцит мангану); *2* — контроль, +Mn (підживлення манганом)

Позакореневе підживлення манганом сприяло підвищенню активності ферменту в дослідних культур на 5—20 % (див. табл. 3), що може бути пов'язано, по-перше, зі зміною стану електронтранспортного ланцюга хлоропластів і, відповідно, балансу відновних еквівалентів, по-друге — із функцією мангану як кофактора МЕ.

Результати електрофоретичних досліджень (рисунок) свідчать про зміну кількісного та якісного складу малік-ензимів. Ізоферментний спектр НАД-МЕ не змінюється за різних умов манганового живлення, хоча активність ферменту змінюється (див. табл. 3).

У досліджених культур розділяються дві ізоформи ферменту з $R_f$ 0,22 і 0,25, крім рослин огірків, у яких розділяються три ізоформи з $R_f$ 0,03, 0,22 і 0,25. Для НАДФ-МЕ виявлено дві ізоформи ферменту в трьох із досліджених культур, а в огірків — три ізоформи. За даними дослідників, у зрілих листках визначаються дві форми НАДФ-МЕ, у зеленіючих — три [7]. За нестачі мангану для НАДФ-МЕ зафіксовано зникнення двох смуг у зимограмі з $R_f$ 0,12 і 0,04 в огірків

та по одній із $R_f$ 0,18 і 0,20 — у томатів та пшениці. Ці повільні ізоформи, вірогідно, мають цитозольну локалізацію.

Можна припустити, що в листках $C_3$-рослин за дефіциту мангану інгібується біосинтез цитозольних ізоформ НАДФ-МЕ. Ізоферментний склад МЕ кукурудзи за нестачі мангану не змінювався, хоча помітніше зменшилась кількість ферменту. Подібну картину спостерігали дослідники Mn-СОД хламідомонад, у яких дефіцит мангану спричинював зникнення певних ізоформ ферменту [5]. Для МДГ таке явище ми спостерігали вперше. Можливо причиною зникнення цитозольних ізоформ є порушення пострансляційного процесингу білків або ще раніше — на стадії транскрипції, де можливий влив нестачі мангану на роботу РНК-полімерази II, кофактором якої є цей мікроелемент.

Вказані зміни у стані малатдегідрогеназної системи свідчать, що вплив мангану на активність її ферментів, особливо малік-ензиму, є вагомим механізмом у реакції рослинного організму на забезпеченість мікроелементом. Можливо, такий механізм виявляється раніше, ніж реакція пігментної системи, бо є чутливішим до коливання вмісту мангану в клітині, зокрема його розчинної цитозольної частини. Останнє підтверджується інгібуванням саме цитозольних ізоформ НАДФ-МЕ. Такий механізм виявиться раніше, ніж візуальні ознаки нестачі мангану і зміна параметрів пігментної системи, та працюватиме у сформованих листках, де наявний манган іммобілізований у складі мембранних комплексів. Отримані результати вказують на можливість використання активності ферментів малатдегідрогеназної системи, зокрема НАДФ-МЕ як критеріїв діагностики забезпеченості рослин манганом поряд із традиційними (вміст і співвідношення хлорофілів *a*, *b*, вміст і співвідношення елементів манган/залізо [15]), що актуально для регіонів, де можливий дефіцит мангану в рослинах.

Отже, виявлені в нашому дослідженні зміни стану малатдегідрогеназної системи свідчать, що вплив мангану на активність її ферментів, особливо малік-ензиму, є вагомим механізмом у реакції рослинного організму на забезпеченість цим мікроелементом. Можна припустити, що вплив рівня манганового живлення на цитозольні форми НАДФ-малік-ензиму є однією з головних причин зниження стійкості рослин за нестачі цього мікроелемента та її підвищення — за підживлення ним рослин.

*ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА*

1. Пинейру да Кавалью М.А.А., Землянухин А.А., Епринцев А.Т. Малатдегидрогеназа высших растений. Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та,1991. 216 с.
2. Иванищев В.В., Курганов В.И. Ферменты метаболизма малата: характеристика, регуляция активности и биологическая роль. *Биохимия.* 1992. **57**, вып. 5. С. 653—662.
3. Martinoia E., Renstch D. Malate compartmentation: responses to a complex metabolism. *Annu. Rev. Plant Phisiol. Plant Mol. Biol.* 1994. 45. P. 447—467.
4. Musrati R.A., Kollárova M., Mernik N., Mikulášová D. Malate dehydrogenase: distribution, function and properties. *Gen. Physiol. Biophys.* 1998. **17**. P.193—210.
5. Allen M.D., Kropat J., Tottey S., Del Campo J.A., Merchant S.S. Manganese deficiency in chlamidomonas results in loss of Photosystem II and MnSOD function, sensitivity of peroxides, and secondary phosphorus and iron deficiency. *Plant Physiol.* 2007. **143**. P. 263—277.

6. Tesfaye M., Temple S.J., Allan D.L., Vance C.P., Samac D.A. Overexpression of malate dehydrogenase in transgenic alfalfa enhances organic acid synthesis and confers tolerance to aluminum. *Plant Physiol.* 2001. **127**. P. 1836—1844.
7. Yudina R.S. Malate dehydrogenase in plants: Its genetics, structure, localization and use as a marker. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2012. **3**. P. 370—377.
8. Drinkovich M.F., Casati P., Andreo C.S. NADP-malic enzyme from plants: a unibquitous enzyme involved in different metabolic pathways. *FEBS Lett.* 2001. **490**, N 1—2. P. 1—6.
9. Хьюитт Э. Песчаные и водные культуры в изучении питания растений. Москва: Изд-во иностр. лит., 1960. 398 с.
10. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 3-е изд., перераб. и доп. Москва: Колос, 1980. 336 с.
11. РД 52.10.556—95. Руководящий документ. Методические указания. Определение загрязняющих веществ в пробах морских донных отложений и взвеси. Москва: Федеральная служба России по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды, 1996. 56 с.
12. Магомедов И.М., Тищенко И.И. Методика исследования главных ферментов $C_4$-фотосинтеза. Труды по прикладной генетике, ботанике и селекции. 1978. **61**, вып. 3. С. 105—110.
13. Методы биохимического исследования растений. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. (ред.). Ленинград: Агропромиздат, 1989. 430 с.
14. Генетика изоферментов. Беляева Д.К.(ред.). Москва: Наука, 1977. 275 с.
15. Якуба І.П., Паузер О.Б. Марганцеве живлення рослин та шляхи його покращення. Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. За ред. В.В.Моргуна. Київ: Логос, 2009. Т. 1. С. 306—318.
16. Рудакова Э.В., Каракис К.Д., Сидоршина Т.Н. Микроэлементы: поступление, транспорт и физиологические функции в растениях. Киев: Наук. думка, 1987. 184 с.
17. Ascher-Ellis J.S., Graham R.D., Hollamby G.J., Paul J., Davies P., Huang C., Pallotta M.A., Howes N., Khabaz-Saberi H., Jefferies S.P., Moussavi-Nik M. Micronutrients. *Application of Physiology in Wheat Breeding*. Mexico D.F.:CIMMYT, 2001. P. 219—240.
18. Graham R.D., Stangoulis C.R. Trace element uptake and distribution in plants. Am. *Soc. Nutr. Sci.* 2003. **133**, N 5. P. 1502—1505.
19. Lai L.B., Wang L., Nelson T.M. Distinct but conserved functions for two chloroplastic NADP-malic enzyme isoforms in $C_3$ and $C_4$ Flaveria species. *Plant Phisiol.* 2002. **128**. P. 125—139.
20. McGonigle B., Nelson T. $C_4$ isoform of NADP-malate dehydrogenase (cDNA cloning and expression in leaves of $C_4$, $C_3$ and $C_3$-$C_4$ intermediate species of Flaveria). *Plant Phisiol.* 1995. **108**, N 3. P. 1119—1126.
21. Etienne C., Moing A., Dirlewander E., Raymond P., Monet R., Rotham C. Isolation and characterization of six peach cDNAs encoding key proteins in organic acid metabolism and solute accumulation: involvement in regulating peach fruit activity. *Physiologia Plantarum*. 2002. **114**, N 2. P. 259—270.

Отримано 26.11.2018

*REFERENCES*

1. Pin'yeyru da Kaval'ye, M.A.A., Zemlyanukhin, A.A. & Yeprintsev, A.T. (1991). Malatdegidrogenaza vysshikh rasteniy. Voronezh: Izd-vo Voronezh. gos. un-ta [in Russian].
2. Ivanishcheva, V.V. & Kurganov, V.I. (1992). Fermenty metabolizma malata: kharakteristika, regulyatsiya aktivnosti i biologicheskaya rol'. Biokhimiya, 57, 5, pp. 653-662 [in Russian].
3. Martinoia, E. & Renstch, D. (1994). Malate compartmentation: responses to a complex metabolism. Annu. Rev. Plant Phisiol. Plant Mol. Biol., 45, pp. 447-467.
4. Musrati, R.A., Kollárova, M., Mernik, N. & Mikulášová, D. (1998). Malate dehydrogenase: distribution, function and properties. Gen. Physiol. Biophys, 17, pp. 193-210.
5. Allen, M.D., Kropat, J., Tottey, S., Del Campo, J.A., & Merchant, S.S. (2007). Manganese deficiency in chlamidomonas results in loss of Photosystem II and MnSOD

function, sensitivity of peroxides, and secondary phosphorus and iron deficiency. Plant Physiol., 143, pp. 263-277.
6. Tesfaye, M., Temple, S.J., Allan, D.L., Vance, C.P. & Samac, D.A. (2001). Overexpression of malate dehydrogenase in transgenic alfalfa enhances organic acid synthesis and confers tolerance to aluminum. Plant Physiol., 127, pp. 1836-1844.
7. Yudina, R.S. (2012). Malate dehydrogenase in plants: Its genetics, structure, localization and use as a marker. Advances in Bioscience and Biotechnology, 3, pp. 370-377.
8. Drinkovich, M.F., Casati, P. & Andreo, C.S. (2001). NADP-malic enzyme from plants: a unibquitous enzyme involved in different metabolic pathways. FEBS Lett., 490, 1-2, pp. 1-6.
9. Kh'yuitt, E. (1960). Peschanyye i vodnyye kul'tury v izuchenii pitaniya rasteniy. Moskva: Izd-vo inostr. lit. [in Russian].
10. Dospekhov, B.A. (1980). Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy). 3-ye izd., pererab. i dop. Moskva: Kolos [in Russian].
11. RD 52.10.556-95 (1996). Rukovodyashchiy dokument. Metodicheskiye ukazaniya. Opredeleniye zagryaznyayushchikh veshchestv v probakh morskikh donnykh otlozheniy i vzvesi. Moskva: Federal'naya sluzhba Rossii po gidrometeorologiy i monitoringa okruzhayushchey sredy [in Russian].
12. Magomedov, I.M. & Tishchenko, I.I. (1978). Metodika issledovaniya glavnykh fermentov $S_4$ fotosinteza. Trudy po prikladnoy genetike, botanike i selektsii, 61, iss. 3, pp. 105-110 [in Russian].
13. Yermakov, A.I., Arasimovich, V.V. & Yarosh, N.P. (Eds.) (1989). Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy. Leningrad: Agropromizdat [in Russian].
14. Belyayeva, D.K. (red.) (1977). Genetika izofermentov. Moskva: Nauka [in Russian].
15. Yakuba, I.P. & Pauzer, O.B. (2009). Margantsevoye pitaniya rasteniy i puti yego uluchsheniya. Fiziologiya rasteniy: problemy i perspektivy razvitiya. Kyiv: Logos, Vol. 1. pp. 306-318 [in Ukrainian].
16. Rudakova, E.V., Karakisa, K.D. & Sidorshina, T.N. (1987). Mikroelementy: postupleniye, transport i fiziologicheskiye funktsii v rasteniyakh. Kyiv: Nauk. dumka [in Russian].
17. Ascher-Ellis, J.S., Graham, R.D., Hollamby, G.J., Paul, J., Davies, P., Huang, C., Pallotta, M.A., Howes, N., Khabaz-Saberi, H., Jefferies, S.P. & Moussavi-Nik, M. (2001). Micronutrients. Application of Physiology in wheat breeding. Mexico D.F.:CIMMYT, pp. 219-240.
18. Graham, R.D. & Stangoulis, C.R. (2003). Trace element uptake and distribution in plants. Amer. Soc. Nutr. Sci., 133, 5, pp. 1502-1505.
19. Lai, L.B., Wang, L. & Nelson, T.M. (2002). Distinct but conserved functions for two chloroplastic NADP-malic enzyme isoforms in $C_3$ and $C_4$ Flaveria species. Plant Physiol., 128, pp. 125-139.
20. McGonigle, B. & Nelson, T. (1995). $C_4$ isoform of NADP-malate dehydrogenase (cDNA cloning and expression in leaves of $C_4$, $C_3$ and $C_3$-$C_4$ intermediate species of Flaveria). Plant Phisiol., 108, 3, pp. 1119-1126.
21. Etienne, C., Moing, A., Dirlewander, E., Raymond, P., Monet, R. & Rotham, C. (2002). Isolation and characterization of six peach cDNAs encoding key proteins in organic acid metabolism and solute accumulation: involvement in regulating peach fruit activity. Physiologia Plantarum, 114, 2, pp. 259-270.

Received 26.11.2018

## МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗНАЯ СИСТЕМА ЗЕЛЕНЫХ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ПРИ НЕДОСТАТКЕ МАРГАНЦА И ВНЕКОРНЕВОЙ ПОДКОРМКЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОМ

*И.П. Якуба, О.Б. Паузер*

Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова

Изучены изменения активности малатдегидрогеназ и малик-энзимов зеленых листьев и изоферментного спектра малик-энзимов растений озимой пшеницы, кукурузы, гороха, огурцов, томатов при разных условиях марганцевого питания. Для подкорм-

ки микроэлементом применяли предпосевное намачивание семян и обрабатывали листья растений раствором сульфата марганца в концентрациях 0,05 и 0,10 %. Содержание марганца в растительных тканях определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, активность ферментов малатдегидрогеназной системы — в гомогенатах листьев. Установлено, что при дефиците марганца количество данного микроэлемента в листьях растений уменьшалось в 5—10 раз по сравнению с контролем, в вариантах с внекорневой подкормкой — увеличивалось в 1,5—2 раза. Соответственно изменялось содержание сахаров, сахарозы, белка и хлорофилла. Изучено влияние уровня обеспеченности растений марганцем на активность НАД- и НАДФ-зависимых малатдегидрогеназ, НАД- и НАДФ-малик-энзимов, изоферментный спектр ферментов НАД- и НАДФ-малик-энзимов. В стрессовых условиях дефицита марганца у $C_3$-растений активность НАДФ-малик-энзима уменьшалась в 5—7 раз, у кукурузы — в 2 раза. При внекорневой подкормке марганцем активность фермента возрастала на 5—20 %. Установлено, что уровень марганцевого питания существенно влияет на изоферментный спектр малик-энзимов. Полученные результаты указывают на возможность использования изменений активности ферментов малатдегидрогеназной системы, в частности НАДФ-МЭ, для диагностики обеспеченности растений марганцем.

*Ключевые слова*: марганец, сельскохозяйственные культуры, подкормка, дефицит, малатдегидрогеназа.

## MALATE DEHYDROGENASE SYSTEM OF THE GREEN LEAVES OF CROPS AT MANGANESE DEFICIENCY AND MANGANESE TREATMENT

*I.P. Yakuba, O.B. Pauzer*

I.I. Mechnikov Odesa National University
2 Shampanskiy prov., 65058, Odesa, Ukraine
e-mail: irinayakuba@yahoo.com

Changes in the activity of malate dehydrogenases and malic-enzymes in the green leaves and the isoenzyme spectrum of malic-enzymes in different conditions of manganese nutrition of winter wheat, maize, peas, cucumber, tomatoes have been studied. For manganese fertilization pre-sowing seed treatment and leaf spraying of plants with a solution of manganese sulfate at a concentration of 0.05 and 0.10 % were used. The content of manganese in plant tissues was determined by the method of atomic absorption spectrophotometry. The activity of the malate dehydrogenase system enzymes was determined in the homogenates of the leaves. It was shown that under experimental conditions, in a variant with a deficit of manganese, the amount of this element was reduced by 5—10 times compared with the control, and in variants with manganese fertilization — increased by 1.5—2 times. Accordingly, the manganese deficit decreased sugars, sucrose, protein and chlorophyll contents, while manganese fertilization increased those parameters. The influence of the level of manganese nutrition of plant on the activity of NAD- and NADP-dependent malate dehydrogenases and NAD and NADP malic enzyme activities, as well as on the isozyme spectrum of NAD and NADP malic enzymes was studied In the stressful conditions of manganese deficit in $C_3$ plants, the activity of malic-enzyme decreased by 5—7 times, in corn — by 2 times. Treatment with manganese caused an increase in the enzyme activity by 5—20 %. The conducted electrophoretic studies allowed to establish that the level of manganese nutrition significantly affects the isoenzyme spectrum of malic-enzyme. Obtained results indicate the possibility of using of changes in the activity of malate dehydrogenase system enzymes, in particular NADP-ME, for diagnostics of the manganese supply in plants.

*Key words:* manganese, agricultural plant, treatment, deficiency, malate dehydrogenase.