

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-446-7-4>

**INGLUENCE OF LIQUID COMPOUND FERTILIZERS
AND COMPONENTS ON ACTIVITY OF THE KEY ENZYMES
IN *GLYCINE MAX L.* UNDER CONDITION CADMIUM STRESS**

**ВПЛИВ КОМПОНЕНТІВ РІДКИХ КОМПЛЕКСНИХ ДОБРИВ
ТА ЇХ КОМПОНЕНТІВ НА АКТИВНІСТЬ КЛЮЧОВИХ
ЕНЗИМІВ У МІКРОТІЛЬЦЯХ *GLYCINE MAX L.*
ЗА КАДМІЄВОГО СТРЕСУ**

Chechui H. F.

*Candidate of Biology,
Associate Professor at the Department
of Biotechnology, Biophysics,
and Analytical Chemistry*

Чечуй О. Ф.

*кандидат біологічних наук, доцент,
доцент кафедри біотехнології,
біофізики та аналітичної хімії*

Bliznjuk O. M.

*Doctor of Engineering, Professor,
Head of Department of Biotechnology,
Biophysics, and Analytical Chemistry*

Близнюк О. М.

*доктор технічних наук, професор,
доцент кафедри біотехнології,
біофізики та аналітичної хімії*

Masalitina N. Yu.

*Candidate of Engineering,
Associate Professor at the Department
of Biotechnology, Biophysics,
and Analytical Chemistry
National Technical University
"Kharkiv Polytechnic Institute"
Kharkiv, Ukraine*

Масалітина Н. Ю.

*кандидат технічних наук, доцент,
доцент кафедри біотехнології,
біофізики та аналітичної хімії
Національний технічний університет
«Харківський політехнічний
інститут»
м. Харків, Україна*

Технічними завданням сучасної агровиробництва є виробництво рослинної сировини із оптимальними для споживача якісними та кількісними характеристиками, яку використовують у різних галузях, зокрема, фармацевтичній. Проте, формування пулу хімічних сполук в рослинах в процесі онтогенезу та оптимальна забезпеченість ними рослинної сировини залежить від метаболічного стану на усіх стадіях їх онтогенезу. Так, гліюксилатний цикл активно функціонує на ранніх етапах виробництва олійних культур у специфічних внутрішньоклітинних органелах – мікротільцях та полягає у перетворенні ліпідів насіння до вуглеводів як субстратів для гліюкогенезу за формування паростків нової рослини. Розмір мікротілець коливається від 1,2 до 0,22 мкм, що спонукає нас до отримання препаратів гліюксим культури із даних молекулярними характеристиками та визначення

в останніх ключових ензимів гліюксилатного циклу: ізоцитратліази (EC 4.1.3.1, ISL) – каталізує ліазну реакцію розщеплення ізоцитрату на сукцинат і гліюксилат, а також малатсинтази (EC 4.1.3.2, MS) – бере участь у реакції конденсації гліюксилату з ацетил-CoA з утворенням малату насіння олійних культур. Так перша реакція β -окиснення жирних кислот у гліюксисомах, що здійснюється з утворенням H_2O_2 , каталізується ацил-CoA-оксидазою, а у пероксисомах зелених частин рослин – ацил-CoA-дегідрогеназою або гліюклатоксидазою. Гідрогена пероксид є сигнальною біомолекулою рослин, синтез якої здійснюється за дії флавінових оксидаз, уратоксидази та гліюклатоксидази, а розщеплення – за дії каталази, одним з критеріїв оптимального вмісту якої є вміст ТБК-активних продуктів. Інтермедіати гліюксилатного циклу – сукцинат та малат – використовуються для синтезу вуглеводів в реакціях гліюконеогенезу [1]. До важливих у харчовому відношенні олійних зернових культур провідне місце *Glycine max L.*, фізіологічний стан якої залежить від швидкості та якості перебігу метаболічних процесів на ранніх етапах органогенезу, зокрема, гліюксилатного циклу. Актуальними та фізіологічно обґрунтованими є використання рідких комплексних добрив (РКД), оскільки за їх обробки рослин відбувається більш повне надходження хімічних компонентів останніх у клітини рослин. Так, актуальним є вплив експериментальних РКД, виготовлених на основі суміші поєднання мінеральних складових із органічними складовими, такими органічні кислоти малат, сукцинат та цитрат, які використовуються у харчовій промисловості, а у рослинах – приймають участь в важливих фізіологічних процесах їх життєдіяльності, таких як, гліюксилатний цикл, на метаболічний стан рослин. Метою даного дослідження є з'ясування впливу комплексного добрива та органічних кислот його складі на функціональний стан мікротілець, що оцінюється за активністю ключових ензимів гліюксилатного циклу, а також оцінка ступеню перебігу ліпопероксидації за вмістом ТБК-реактивних сполук в за оксидативного стресу, спричиненого іонами кадмію, на ранніх етапах органогенезу *Glycine max L.*, що становить мету даного експериментального дослідження.

Експерименти проводили у модельній системі – гідропонній культурі, що являє собою мінеральну вату, змочену поживним середовищем Кнопа та вкрити світлонепроникною плівкою за витримання у камері термостату. В якості рослинної сировини використовували насіння *Glycine max L.* сорту Clark, моделювання стресу рослин здійснювали шляхом витримували посівного матеріалу на розчинах Кнопа із додаванням кадмію хлориду у кінцевій концентрації 175 мкМ за внесення РКД «аватар_{експ}-2-мсц», що містив вищенаведені макросолі, суміщ мікро-та ультрамікросолей B, Zn, Fe, Mn, Cu, Mo, V, Ni, Ti, La, Se, Ge, J, Si, Ag, а також цитрат, малат та сукцинат натрію,

розробленого автором на базі Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, в ході виготовлення яких органохелати біогенних елементів отримували з їх колоїдних розчинів шляхом хелатування наночастинок розміром 45–80 нм з органічними кислотами. В окремих експериментах вивчали сумісну дію іонів кадмію у вищенаведеній концентрації, а також L-малату, натрія сукцинату або цитрату у концентрації 0,35 мМ на протязі доби, в окремих варіантах – лише органічних кислот. Аналіз сім'ядолей проводили на третю добу експерименту. Отримання фракції мікротілець здійснювали у середовищі екстракції наступного складу: 50 мМ tris-HCl, pH 7,8; 0,5 М сахароза; 1 мМ ЕДТА, 5 мМ дітіотрейтол та 1 мМ MgCl₂, із відповідним послідовним центрифугуванням. З метою досягнення необхідного розміру мікротілець здійснювали освітлюючу фільтрацію крізь мембранні фільтри *Millipore* (США) із діаметром пор 1,22 мкм, а потім стерилізуючу фільтрацію крізь мембранні фільтри із діаметром 0,22 мкм. Фільтрат використовували для визначення активності ПЦЛ та МС на полуавтоматичному аналізаторі *Carmey multi* за методом Діксона-Корнберга, а також протеїну в цих зразках: активність першого ензиму виражали у нМ фенілгідрозогліюксилату / (мг протеїну • 1 хв), а другого – у нМ SH-коензиму А / (мг протеїну • хв) [2]. Вміст ТБК-реактивних продуктів визначали у непротеїнових гомогенатах за реакцією взаємодії МДА із 2-тіобарбітуровою кислотою у бутанольній фракції [3]. Отримані у біотехнологічних дослідженнях експериментальні дані оброблені ізвикористанням пакету програми методів біостатистики *Biostat 10* із визначенням М-середнього та sem-похібки середнього.

Виявлено підвищення за дії іонів кадмію: активності ПЦЛ у 1,8 разів, а МС – на 42 % за дії іонів кадмію. Регулятором активності ключових ензимів метаболічних шляхів, зокрема, гліюксилатного циклу, є концентрація активних форм кисню в рослинному організмі. Доведено підвищення вмісту ТБК-реактивних продуктів за присутності іонів кадмію у 2,3 рази відносно контрольного критерію. Застосування рідкого комплексного нанопрепарату «аватарексп-2-мсц» призводить до зниження вмісту ТБК-активних продуктів за присутності іонів кадмію, що свідчить тенденцію до оптимізації метаболічних процесів зернобобових культур на прикладі *Glycine max L.* В той час як, монообробка посівів рослин органічними кислотами малатом, сукцинатом та цитратом виявляє більш виражений адаптаційний ефект за умов стресу, спричиненого іонами кадмію у форму кадмія хлориду, по відношенню до дії цього рідкого комплексного технологічного препарату, що виявляється у підвищенні активності ПЦЛ у 1,2 рази, а МС – на 27 %. У рази дії на рослини сукцинату та цитрату виявляється регуляторна дія цих кислот на активність ключових

ензимів гліюксилатного циклу, в той час, як виявлено підвищення вмісту ТБК-активних продуктів за дії малату у використаній концентрації. Препарати мікротілець, отриманих з дослідженої культури, після додаткових експериментів, можуть бути використані в якості компонентів рецептури лікарських засобів певної біологічної дії у ветеринарії, а також в якості харчових добавок до раціону жуйних тварин з метою оптимізації гліюксилатного циклу в їх рубці та нормалізації процесу травлення в останніх. на прикладі «аватар_{Рексп}-2-мсп», компонентами яких є біогенні хелатовані три-, ди- та монокарбоновими органічні кислоти. Перспективою подальших експериментальних досліджень є розробка складу рідких комплексних препаратів та їх апробація на посівів сільськогосподарських культур за їх метаболічного стану та агротехнологій.

Література:

1. Shrestha P., Callahan D. L., Singh S. P., Petrie J. R., and Zhou X-R. Reduced triacylglycerol mobilization during seed germination and early seedling growth in Arabidopsis containing nutritionally important polyunsaturated fatty acids. *Front Plant Science*. 2019. Vol. 26. P. 1–14. doi 10.3389 / fpls.2016.01402.
2. Gonçalves I. L., Mielniczki-Pereira A.A., Borges A. C. P., Valduga A. T. Metabolic modeling and comparative biochemistry in glyoxylate cycle. *Acta Scientiarum Biology Science*. 2016. Vol. 38, № 1. P. 1–6.
3. Zeb Alan, Ullah Fareed. A simple spectrophotometric method for the determination of thiobarbituric acid reactive substances in fried fast foods. *Journal of Analytical methods in Chemistry*. 2016. Vol. 2016. P. 1–5. doi: 10.1155/2016/9412767