

DOI: 10.36719/2707-1146/03/39-42

Ziyəddin Mahmud oğlu Məmmədov
Nailə Zahir qızı Əliyeva
Bakı Dövlət Universiteti
naila.aliyeva@bsu.edu.az

QURACLIQ STRESİNİN QARĞIDALI CÜCƏRTİLƏRİNİN İNKİŞAFINA VƏ FERMENTLƏRİN AKTİVLİK DİNAMİKASINA TƏSİRİ

Xülasə

Süni quraqlıq stresi yaradılmaqla stres şəraitində hüceyrədə NADPH pulunun formalaşmasında xüsusi rolu olan qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza (Q6PDH, EC 1.1.1.49) və dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza (DMDH, EC 1.1.1.40) fermentlərinin aktivliyi təyin olunmuşdur. Müəyyən olunmuşdur ki, qarğıdalı cücərtilərinin inkişafı ilə bağlı Q6PDH fermentinin aktivliyinin azalması, DMDH fermentinin aktivliyinin isə nəzərəcarpacaq yüksəlməsi müşahidə olunur. Quraqlıq stresi hər iki fermentin, xüsusilə də Q6PDH həm kök, həm də yarpaqlarında fəallaşmasına səbəb olur. Quraqlıq stresinin davamlı olması hər iki fermentin, xüsusilə də Q6PDH-ya nisbətən DMDH-in induksiya olunmasına səbəb olur.

Açar sözlər: qarğıdalı cücərtiləri, quraqlıq stresi, qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza, dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza

The influence of drought stress on the development of maize seedlings and the dynamics of activity of enzymes in their tissues

Summary

Investigated the dynamics of the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDG, EC 1.1.1.49) and malate dehydrogenase decarboxylating (MDHD, malic-enzyme, EC 1.1.1.40) enzymes that play an important role in the formation of NADPH pool of cells, under drought stress. It has been established that the development of maize seedlings is accompanied by a weakening of the activity of the G6PDH and a noticeable increase in the activity of MDHD. A drought stress causes activation of both of enzymes, in particular G6PDG, both in the root and in the stem tissues of the seedlings. An increase in the concentration is accompanied by the induction of MDHD activity to a greater extent, than that of G6PDH.

Key words: maize seedling, drought stress, glucose-6-phosphate dehydrogenase, malate dehydrogenase decarboxylating

Giriş

Quraqlıq bitkilərin inkişafını ləngidən, onları məhsuldarlıqdan salan, davamlı olduğu zaman isə hətta onların təməmilə məhv olmasına gətirən əsas abiotik stres amillərindən biridir. (Gill S.S., Anjum N.A., Hasanuzzaman M., 2013, s. 204-212). Respublikamızda da son 10 illikdə global iqlim istiləşmələri səbəbindən quraqlıq hər il müşahidə olunmaqdadır. Xüsusilə iyulun 15-dən avqustun 20-nə qədər quraqlığın olması səbəbindən Respublikamızın bir çox regionlarında becərilən bostan və taxıl bitkilərinin inkişaf fazasının ləngiməsi onları inkişafdan və məhsuldarlıqdan salır. Ümumilikdə quraqlıq stresinin təsirindən bitkilərin inkişafında su azlığından baş verən uyğunlaşmalar hesabına baş verən dəyişikliklər bunlardır; ağızcıqlar bağlanaraq tranprasiya prosesinin azalması, fotosintezin zəifləməsi, biosintez prosesinin zəifləməsi, osmotik təsirli maddələrin yaranması, oksidləşmə və fosforlaşma arasında əlaqənin pozulması və s. (Bartels D., Sunkar R. 2007, s.23-58) Bitkinin təkamül boyu qazandığı stresə qarşı dözümlülük və özünü müdafiə qabiliyyətinin sayəsində bitki stresə qarşı dözümlülük göstərməyə çalışır, lakin stresin davamlı olduğu şəraitdə bu cür müdafiə bitkinin dayanıqlı olmasını təmin edə bilmir. Bu səbəbdən də bitkilərin stres şəraitində müdafiə sisteminin mexanizminin öyrənilməsi aktual problemlərdən biridir ki, biz də tədqiqat işlərimizi qarğıdalı bitkisinin (*Zea Mays L.*) stres şəraitində inkişafının müşahidə olunaraq, onun müdafiə sisteminin əsasında duran və hüceyrənin əsas reduksiyaedici potensialını təmin edən NADPH əmələ gətirən fermentlərdən bəzilərinin öyrənilməsinə həsr etmişik.

Tədqiqat işimiz Bakı Dövlət Universitetinin laboratoriyasında qarğıdalı bitkisinin Ümid genotipi üzərində aparılmışdır. Təcrübələr zamanı qarğıdalı toxumları 3%-li hidrogen peroksid məhlulunda 10 dəqiqə saxlanıldıqdan sonra ardıcıl olaraq 2 dəfə distillə olunmuş su ilə yuyulduqdan sonra isladılaraq bir gün saxlanıldıqdan sonra qablarda torpaqda əkilərək cücərtilərin çıxması gözlənilmiş, nəhayət cücərtilər müşahidə olunduqdan sonra qeydlər aparılaraq biometrik hesablamalar aparılmışdır. Quraqlıq stresinin qarğıdalı cücərtiləri üzərində təsirinin öyrənilməsi üçün süni quraqlıq mühiti yaradılmışdır. Beləliklə, əkilmiş

qarğıdalı nümunələrindən biri kontrol variant götürülərək hər gün ərzində suvarılmış, 2-ci variant 2 gündən bir, 3-cü variant 3 gündən bir olmaqla suvarılmaqla 10 gün ərzində 4 gündən bir olmaqla həm cücərtilərin biometrik göstəriciləri hesablanmış, eyni zamanda hüceyrədə streslə bağlı müdafiə rolu olan fermentlərin aktivlik dinamikası qeydə alınmışdır. Təcrübələrdə gözlənilməli kimi kontrol variantda bitkinin biometrik göstəriciləri normal, 2 və 3-cü variantlarda zəifləmiş kök və gövdə sistemi müşahidə olunmuşdur. Həmçinin təcrübələr göstərir ki, bitkinin gövdə və yarpaqlarında su balansının pozulması ilə inkişafdan qalma, kök sisteminə nəzərən daha qabarıq şəkildə nəzərə çarpır. 3 gündən bir suvarılan qarğıdalı yarpaqlarında 2 gündən bir suvarılan yarpaqlarla nisbətə daha erkən quruma və qıvrılmalar müşahidə olunmuşdur. Kök sistemində də suvarılmanın azaldılması ilə variantlarda saçaqların şaxələnməsi və uzanması azalmışdır. Aşağıdakı cədvəldə qarğıdalı cücərtilərinin müxtəlif variantlarda kök və gövdə hissəsinin biometrik göstəriciləri verilmişdir.

Cədvəl 1.

	4 gün	8 gün	12 gün
Kontrol	gövdə 6.2±03 kök 2.6±02	kök 8.4±03 gövdə 4.7 ±03	kök 10.9±04 gövdə 6.9±03
2 gündən bir olmaqla suvarma	gövdə 3.4±01 kök 2.5±01	kök 4.3±02 gövdə 3.3±02	kök 5.1±02 gövdə 3.9±02
3 gündən bir olmaqla suvarma	gövdə 2.9±01 kök 1.7±01	kök 3.6±02 gövdə 2.3±01	kök 4.1±01 gövdə 2.7±01

Cədvəldən də görüldüyü kimi, suvarılma aralığı azaldıqca bitkinin kök və yarpaqlarında inkişafın zəifləməsi müşahidə olunur.

Bitkinin müdafiə olunması üçün hüceyrədə hansı molekulyar mexanizmlərin baş verdiyini aydınlaşdırılması üçün fermentlərin aktivlik dinamikasının öyrənilməsi məqsədilə biometrik göstəricilərin qeydə alınaraq müqayisə olunması ilə paralel bitkinin cücərtilərinin kök və gövdəsindən hazırlanmış homogenat analiz olunmuşdur. Apardığımız tədqiqat işlərində hüceyrədə əsas reduksiyaedici potensiala malik olan və onun müdafiə sisteminin əsasını təşkil edən NADPH əmələ gətirən fermentlərdən (Corpas F.J., Barroso J.B., 2014, s.1-5) qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza və dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza fermentlərinin qarğıdalı bitkisi cücərtilərinin inkişafı və stressdən asılı aktivlik dinamikası təyin olunmuşdur. Qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza fermenti (G6PDH EC: 1.1.1.49) qlükozanın oksidləşməsinin ən qədim yollarından olan pentozafosfat yolunun oksidləşmə mərhələsinin reaksiyalarını kataliz edir və reaksiyaların gedişində NADPH sintez olunur. (Kruger N.J., 2003, s. 236-246). Dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza fermenti (DMDH EC: 1.1. 1.40) də hüceyrədə əsas NADPH sintez edən fermentlərdən olub, NADP+ NADPH-ə qədər reduksiya edir (NADP-ME), stressə qarşı müdafiənin təmin olunmasında iştirak edir (Liu S., Cheng Y, Zhang X. 2007, s. 49-57).

Homogenatın hazırlanması üçün soyuq həvəngdəstədə şüşə qırıntılarının iştirakı ilə bitkinin kök və gövdəsi yaxşı qarışdırılaraq əzilmiş və supernatant ferment preparatının alınması üçün 20 dəqiqə ərzində 9000 g və 4°C-də sentrifüqalanmışdır.

Qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza ferment preparatının hazırlanması üçün 10 mM MgCl₂, 4 mM EDTA, 15 µM NADP, 10% gliserol və 1 mM fenilmetilsulfonil florid olan 50 mM TRİS-HCl buferindən istifadə etmişik. Reaksiya (pH-8,2) və 23 C mühitində aparılıb. Aktivliyin təyin olunması 10 mM MgCl₂, 0,15 mM NADP və 3 mM qlükoza-6-fosfat natrium duzu tərkibli 50 mM TRİS-HCl (pH 8,2) buferində aparılmışdır. Reaksiya inkubasiya mühitinə 0.5 ml ferment preparatı əlavə olunmaqla başlanmışdır.

Dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza ferment preparatının (homogenatın) hazırlanması üçün tərkibində 5 mM MgCl₂, 2 mM EDTA, 10% gliserol, 10 mM merkaptotanol və 1 mM fenilmetilsulfonil florid olan 100 mM Tris-HCl (pH 7,2) buferi, aktivliyin təyin olunması üçün isə tərkibində 10 mM MgCl₂, 0,5 mM NADP və 4 mM malat olan 50 mM TRİS-HCl (pH 7.2) buferindən istifadə olunmuşdur. Reaksiyaya əlavə olunanadək malat K₂CO₃ duzu ilə neytrallaşdırılır. Bu reaksiyamız da 0,5 ml ferment preparatının əlavə olunması və 1 m-ə çatdırılmaqla aparılmışdır.

Təcrübələr zamanı müəyyən olunmuşdur ki, hər 2 ferment cücərtilərin inkişafı ilə əlaqədar aktivlik göstərir və bu aktivlik eksperimental variantlardan hər 3-də fərqli qiymətlərlə müşahidə olunur. Həmçinin qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza fermentinin aktivliyi azalan, dekarboksilləşdirici malatdehidrogenazanın aktivliyi isə artan xətlə izlənilir. Eyni zamanda təcrübələrin ilk 4-8 günlüyündə kontrol variantda qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza fermentinin aktivliyi suvarılma fasilələrlə verilən variantlarda olduğuna nəzərən daha

zəif olmuşdur, təcrübənin 12-ci günündə isə kontrol variantda dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza fermentinin aktivliyi digər variantlarda olduğundan yüksək olduğu qeydə alınmışdır. Bu isə aldığımız nəticələr və ədəbiyyat məlumatlarına əsasən bitkinin stresə qarşı müdafiə mexanizmlərinin işə düşməsi, hüceyrədə NADPH pulunun formalaşması ilə əlaqədar stresin ilkin dövründə qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza, sonrakı inkişaf günlərində isə dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza fermentinin müdafiəyə keçməsinə əsaslandırmağa imkan verir. (Ying W., 2008, s.179-206).

Aşağıdakı cədvəldə qarğıdalı cücərtilərinin kök və gövdə hissələrinin quraqlıqdan asılı və kontrol variantla bağlı ferment aktivliyi verilmişdir.

Cədvəl 2.

	0 gün	4 gün	8 gün	12 gün
Kontrol	91.7 ± 3.1	86.2 ± 3.2	79.2 ± 3.1	69.5 ± 2.3
Q6PDH	51.4 ± 3.0	60.4 ± 3.1	71.5 ± 2.9	83.2 ± 3.8
DMDH				
2 gün aralıqla suvarma				
Q6PDH	-	107.1 ± 1.2	96.2 ± 2.2	82.4 ± 1.6
DMDH	-	71.3 ± 1.3	93.7 ± 1.9	117.3 ± 5.1
3 gün aralıqla suvarma				
Q6PDH	-	102.7 ± 3.7	92.6 ± 1.5	72.8 ± 1.3
DMDH	-	81.9 ± 2.5	97.3 ± 1.9	119.3 ± 3.2

Cədvəldən də göründüyü kimi, təcrübələrin ilkin dövründə qlükoza-6-fosfat dehidrogenaza yüksək aktivlik dinamikasına malik olsa da təcrübələrin sonunda zəifləmə müşahidə olunur, dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza fermenti isə cücərtilərin inkişafının ilkin dövründə zəif dinamikayla müşahidə olursa da sonunda aktivlik göstərir.

Nəticə

Təcrübələrimizdən aydın olur ki, qarğıdalı cücərtilərinin inkişafı ilə bağlı quraqlıq stresinin təsirindən qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza fermentinin aktivliyi azalan, dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza fermentinin aktivliyi isə artan dinamikayla müşahidə olunur. Suvarılma aralığının uzadılması ilə aktivlik dinamikasının induksiya olunması daha çox dekarboksilləşdirici malatdehidrogenaza fermenti ilə bağlıdır. Beləliklə kontrol variantla müqayisədə Q6PDH stresin ilk günlərində aktivləşərək tədricən azalmaya doğru qiymət aldığı halda, DMDH fermenti qismən aktivləşir və təcrübənin sonuncu günlərinə doğru artan qiymətlə müşahidə olunur. Bu isə təcrübənin ilk günlərində cücərtilərin stresə qarşı müdafiəsi Q6PDH, son günlərinə doğru DMDH asılıdır.

Ədəbiyyat

1. Corpas F.J., Barroso J.B. NADPH-generating dehydrogenases: their role in the mechanism of protection against nitro-oxidative stress induced by adverse environmental conditions. *Environmental Science*, 2014, v.2, p. 1-5.
2. Bartels D., Sunkar R., Drought and Salt Tolerance in Plants, *Critical Reviews in Plant Sciences*, vol 24,2005, Issue 1,p.23-58.
3. Debnam P.M., and Emes M.J. Subcellular distribution of enzymes of the oxidative pentose phosphate pathway in root and leaf tissues *J. Exp. Bot.*, 1999, v. 50, pp., 1653–1661
4. Gill S.S., Anjum N.A., Hasanuzzaman M., Gill R., Trivedi D.K., Ahmad I., et al. Glutathione and glutathione reductase: a boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. *Plant Physiol. Biochem*, 2013, v.70, pp., 204–212.
5. Kruger N.J., Antje von Schaewen, The oxidative pentose phosphate pathway: structure and organisation. *Curr. Opin Plant Biol.* 2003, v. 6, pp. 236–246
6. Liu S., Cheng Y., Zhang X., Guan Q., Nishiuchi S., Hase K., et al. Expression of an NADP-malic enzyme gene in rice (*Oryza sativa*. L) is induced by environmental stresses; over-expression of the gene in *Arabidopsis* confers salt and osmotic stress tolerance. *Plant Mol. Biol.*, 2007, v., 64, pp., 49–58.
7. Sagi M., and Fluhr R., Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases. *Plant Physiol.*, 2006, v., 141, pp., 336–340.

8. Scharte J., Schön H., Tjaden Z., Weis E., Antje von Schaewen, Isoenzyme replacement of glucose-6-phosphate dehydrogenase in the cytosol improves stress tolerance in plants. Proc. Nation. Acad. Sci. U.S.A., 2009, v.106, pp., 8061–8066.
9. Ying W., (2008). NAD⁺ /NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. Antioxid. Redox Signal. 10, pp. 179–206.

Göndərilib: 28.07.2020

Qəbul edilib: 30.07.2020