

КИЇВСЬКОЇ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

на правах рукопису

Штеменко Наталія Іванівна

АМІНОКИСЛОТИ ТА ЛІПІДИ РІЗНИХ ЗА СТІЙКІСТЮ
ГЕНЕТИЧНИХ ФОРМ КУКУРУДЗИ

03.00.04. Біологія

Аннотация
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ 1994

ТВ 23004
Робота виконана у науково - дослідному Інституті біології
Дніпропетровського державного університету

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук
ОСТРОВСЬКА Людмила Костянтинівна

доктор біологічних наук
СТАРОВУВ Микола Федорович

доктор біологічних наук
ВОВЧУК Сергій Володимирович

Провідна установа - Чернівецький державний університет
ім. Ю.Федьковича

Захист дисертації відбудеться ...~~в~~...*Через*..... 1994 р.
о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 01.01.07
для захисту дисертацій на біологічному факультеті Київського
університету ім. Тараса Шевченка за адресою: 252127, м. Київ-127,
пр. Ак. Глушкова, 2, корп. 12.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці університету

Автореферат розісланий *31 січня* 1994 р.

ЛНБ України ім.В.Стефаніка



00801505 (J)

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук, професор

Брайсон Брайсон О.В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Першочерговими завданням рослинної біохімії на найближчі роки повинно бути розкриття морфогенетичної, біохімічної, фізіологічної та генетичної суті найважливіших господарчих ознак і біологічних властивостей рослин перспективних форм і сортів. Це - необхідна умова як для створення нових, більш ефективних методів селекційно-генетичного аналізу, так і для розробки заходів реконструкції генетичних систем рослин методами генної інженерії (Конарев В.Р., 1987).

Формування білкового комплексу, структура і фізіолого-біохімічні особливості запасних білків, генетичний базис мутацій типу opaque-2 (o2) вивчаються у зв'язку з можливістю підвищення поживної якості кукурудзи (Soave C., 1984, Wilson C.W., 1988, Вінниченко О.М., 1990, N. di Fondzo, 1987-1992). В той же час звичайні та переведені на основу o2 форми кукурудзи характеризуються різним адаптивним потенціалом по відношенню до деяких захворювань (Ortega R., 1973, Флоря М.В., 1990), теплового шоку (Плотников В.К., 1991) та хімічного впливу (Кіртона І.Х., 1975). Вплив мутацій типу o2 на зниження адаптивного потенціалу рослин кукурудзи є відкритим питанням і актуальним напрямком досліджень особливостей метаболізму, що визначають стійкість злакових до екзогенного впливу.

Найменш вивченою фракцією азотовмісних речовин рослин є фракція вільних амінокислот, склад якої в різних генетичних формах значно відрізняється. Актуальним є питання: яким цінним якостям рослин відповідає формування певного пулу вільних амінокислот, маючи в перспективі розробку простих тестів для оцінки селекційного матеріалу. Практично не вивчене питання кількісного співвідношення зв'язаних та вільних амінокислот в процесі формування зернівки, в той час, як цей показник може характеризувати ефективність використання зернівкою азото- і вуглецевмісних поживних речовин, які потрапляють із вегетативних органів. Перебудову пулу вільних амінокислот рослинної клітини під впливом деяких факторів відносять до найважливіших механізмів біохімічної адаптації (Уоча-чка П., 1988).

Хімічне забруднення вважається одним з найшкідливіших для навколишнього середовища. Атразин і сим-триазини - гербіциди, які найбільш широко використовуються сільськогосподарському вироб-

ництві кукурудзи (Ликов В.С., 1989). Але питання про вплив цих препаратів на амінокислотний склад вегетативних та, особливо, репродуктивних органів кукурудзи практично не вивчене. Актуальність таких досліджень підтверджується тим, що пептидні кон'югати атразину і його метаболітів, які раніше вважалися нетоксичними, шкідливо впливають на нервову систему ссавців (Кохіашвілі Х.А., 1989).

Зерно різної за цінними сільськогосподарськими ознаками, такими, наприклад, як стійкість до захворювань кукурудзи, має близькі сумарні склади амінокислот і ліпідів зерна. В той же час відомо, що вплив генетичних факторів, які визначають конкретні ознаки, проявляється насамперед в диференціації тканин зернівки, зміні розміру, компактності і фізіолого-біохімічних характеристик анатомічних частин і субклітинних часток зерна (Soave C. 1984, Wilson C.W. 1988). З цього погляду анатомічні частини та субклітинні частки зерна кукурудзи практично не вивчені, хоча відомо, що перикарп - найбільш важливий компонент протидії насінню до будь-якого пошкодження (Holloin J.M. 1983), а мембрана білкового тіла виконує захисні та регуляторні функції в процесі відкладання запасного білку зернівки (Burr V., 1977- 1989).

Мета і основні завдання дослідження. У відповідності з вищевикладеним, основною метою роботи є дослідження амінокислотного і ліпідного складу кукурудзи різних форм у зв'язку з їх стійкістю до екогенних впливів. Були поставлені наступні задачі:

-дослідити склад зв'язаних та вільних амінокислот зерна різних за стійкістю форм кукурудзи, їх кореляційні зв'язки в процесі дозрівання в звичайних умовах і при адаптації до пестицидного стресу;

-вивчити роль амінокислот і ліпідів поверхневих тканин зернівок кукурудзи у контролюванні стійкості до захворювань виходячи з необхідності розробки методів виявлення стійких і нестійких форм;

-дослідити процес формування пулу вільних амінокислот в листі кукурудзи на різних стадіях онтогенезу і вивчити вплив деяких екогенних факторів на ці характеристики;

-виявити найбільші розбіжності в формуванні ліпідного складу білкових тіл, анатомічних частин і цілого зерна кукурудзи контрастних за стійкістю до захворювань форм.

Робота узагальнює наслідки досліджень в період з 1981 по 1993 роки в відділі молекулярної біології НДІ біології Дніпропетровсько-

го державного університету.

Наукова новизна роботи. Вивчено процес накопичення зв'язаних і вільних амінокислот зерна кукурудзи в звичайних умовах вирощування і при передпосівній обробці ґрунту атразином. Нами введено одиницю - "індекс невключення" - відношення кількості вільної амінокислоти до її сумарної кількості, яка характеризує ефективність використання фонду вільних амінокислот в процесі біосинтезу запасних білків зерна. Вперше показано генотипову обумовленість адаптивних реакцій інактивації ксенобіотика в зерні кукурудзи. Якісний склад вільних амінокислот зерна стійких генетичних форм кукурудзи відповідає амінокислотному складу білку що синтезується; нестійкі форми характеризуються накопиченням підвищеного пулу вільних амінокислот та невідповідністю процесу формування пулу вільних амінокислот якості запасних білків.

Визначено склад амінокислот перикарпа звичайних і високолівнінових форм кукурудзи. Якісно та кількісно досліджено процес екстракції вільних амінокислот різними розчинниками з нерозмолотого зерна кукурудзи контрастних по стійкості до захворювань форм. Показана висока ступінь кореляції кількості екстрагованих нінгідринопозитивних речовин з даними по захворюванню фузаріозом, які були одержані звичайними фітопатологічними методами.

Вперше вивчено вплив о₂-мутації на процес накопичення амінокислот в листі рослин кукурудзи верхнього ярусу в репродуктивній фазі розвитку та знайдено високий кореляційний зв'язок вільної ГАМК з білковими амінокислотами. У флаговому листі о₂-кукурудзи в період максимального накопичення вільних амінокислот показано різке зниження проліну, а в листі обгортки - підвищення кількості аспарагіну і глутаміну в порівнянні із звичайною формою. Вперше показана генотипова обумовленість формування звичайного та адаптивного амінокислотного пулу первинного листа паростків різних форм кукурудзи.

Вперше вивчено склад ліпідів зерна звичайних та високолівнінових форм кукурудзи. Максимальна різниця в складі ліпідів анатомічних частин звичайних аналогів і мутантів відноситься до перикарпу та ліпідів поверхневих тканин зернівки і визначається більшою насиченістю (в 1-3 рази) жирних кислот останніх, зниженням вмісту вищих жирних кислот, зміною співвідношень компонентів неомилених

речовин і поверхневих восків.

Вперше вивчено склад ліпідів білкових тіл ендосперма кукурудзи. Показано, що чим крупніші органели, тим більший вміст С 18 - ненасичених жирних кислот. Запропоновано гіпотетичну схему напрямків біосинтезу жирних кислот та деяких похідних сполук в поверхневих та ендоспермальних тканинах зерна кукурудзи стійких та нестійких до захворювань форм.

Практичне значення роботи. Виконані дослідження є основою для розвитку уявлень про формування амінокислотного комплексу зерна і листя кукурудзи різних за стійкістю генетичних форм кукурудзи при звичайних умовах вирощування і під впливом деяких факторів, а також про склад ліпідів зерна, анатомічних частин і білкових тіл зерна кукурудзи, які можуть бути використані для в'ясування проблем фізіології і біохімії рослин, молекулярної біології та сільськогосподарства.

Розроблено мікробіологічний метод оцінки поживної цінності білків злакових культур (А.с. N 1669982). Запропоновано метод здобування білкової добавки з відходів крохмало-паточкового виробництва (А.с. N 17346466). Розроблено спосіб визначення стійкості зерна кукурудзи до фузаріозу (А.с. N 17841440), який використовується для оцінки селекційного матеріалу в НДІ Кукурудзи, м.Дніпропетровська.

Первинне листя запропоноване моделлю для дослідження біосинтезу амінокислот *in vivo*.

Результати, отримані при вивченні амінокислотного складу різних форм кукурудзи, покладені в основу двох монографій.

На захист виносяться такі положення:

1. Процес накопичення вільних амінокислот зерна кукурудзи є генетично обумовлений і сполучений з формуванням запасних речовин зернівки, що визначають стійкість до екзогенного впливу; ступінь відповідності вільних амінокислот білкам що синтезуються на різних стадіях онтогенезу, відображує ефективність використання азотомісних речовин що надходять з вегетативних органів і являється фізіолого-біохімічним показником, який найбільш контрастно характеризує різні за стійкістю генетичні форми кукурудзи.

2. Підвищена кількість вільних амінокислот та більша насиченість ліпідів характерні для поверхневих тканин зерна кукурудзи.

нестійких до захворювань форм у порівнянні з стійкими.

3. Максимальні відміни у складі амінокислот вегетативних органів різних за стійкістю генетичних форм кукурудзи знайдено в фазах репродуктивного розвитку та пророщування стосовно вмісту вільного проліну та транспортних форм амінокислот.

4. Ліпіди ендоспермальних та поверхневих тканин зерна кукурудзи нестійких до захворювань генетичних форм кукурудзи характеризуються підвищеними насиченістю та вмістом жирних кислот з непарною кількістю атомів вуглецю, що дає можливість припустити змінену інтенсивність процесів цис-дезатурації та ω-окислювання жирних кислот в тканинах нестійких форм рослин.

Апробація роботи. Основні положення дисертаційної роботи опубліковані у вітчизняних та закордонних друкованих виданнях та викладені на V, VI з'їздах ВОРІС (Москва, 1987; Мінськ, 1992), на V Українському з'їзді генетиків і селекціонерів (Умань, 1986), на IV, V, VI Українських біохімічних з'їздах (Дніпропетровськ, 1982; Івано-Франківськ, 1987; Київ, 1992), на IX з'їзді Українського ботанічного товариства (Дніпропетровськ, 1992), Всесоюзних симпозиумах "Молекулярні механізми генетичних процесів" (Москва, 1983, 1990), на Виїзній сесії Ради АН СРСР "Сільхозрадіобіологія" (Дніпропетровськ, 1989), на IV Всесоюзному симпозиумі "Ліпіди клітинних мембран" (Черноголовка, 1989), на Всесоюзних науково-технічних нарадах молодих вчених по проблемам кукурудзи (Дніпропетровськ, 1981-1987), на I Всесоюзній конференції "Растения и промышленная среда" (Дніпропетровськ, 1990), на VI Школі-семинарі "Механізми адаптації животної та рослинної екстремальним факторам середовища" (Ростов-на-Дону, 1990), на Всесоюзній конференції "Екологічна генетика рослин, тварин та людини" (Кишинів, 1991), на Всесоюзному семінарі "Біохімічні основи зберігання та переробки сільськогосподарського сировини для харчової промисловості" (Одеса, 1991), на III Всесоюзному симпозиумі "Клітинні механізми адаптації" (Чернівці, 1991), на 18 всесоюзних, міжнародних, республіканських, регіональних конференціях.

Публікації. По матеріалах дисертації опубліковано 58 робіт, 2 монографії, одержано 3 авторських свідоцтва.

Структура і обсяг роботи. Дисертація викладена на 299 сторінках і складається із вступу, 3-х частин, 10 розділів, заключення, висновків та переліку літератури. Робота ілюстрована 27 рисунками і

59 таблицями. Список цитованої літератури містить 420 назв.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами дослідження були листя і зерно інбредних ліній та 1. високолізинових аналогів, гібриду Піонер 3978М на різних стадіях онтогенезу, а також колекція зразків зерна кукурудзи, контрастних по стійкості до фузаріозу, які вирощені або одержані внаслідок селекційної роботи на Дніпропетровській дослідній станції НДІ Кукурудзи.

Височення мутантних алелей в генотип звичайних ліній здійснювали методом зворотньо - насичених схрещувань по загальноприйнятій техніці схрещувань та запилення рослини кукурудзи. Дні відбору проб відповідали наступним фазам дозрівання зерна: формування зерна - 15 днів після запилення (дпз), налив-22 дпз, молочна зрілість-29 дпз, молочно-воскова - 36 дпз, воскова-43 дпз, фізіологічна зрілість зерна-50 дпз. Проби гібрида Піонер 3978М відбирали через семиденні терміни часу, починаючи з молочної зрілості початка. Досліди з гербіцидною обробкою проводили на 3-х контрольних та 3-х дослідних (внесення під передпосівну культивування 5кг/га атразину на протязі трьох років) ділянках в польовому стаціонарі лабораторії боротьби з бур'янами НДІ Кукурудзи. Дослідження проводились одночасно зерна і листя рослини.

Загальний азот визначали методом піромітичної хроматографії на елементному СНН аналізаторі моделі Carlo Erba Strumentazione 1106, білок - перерахунком по Рядчикову В.Г. (1975). Підготовку проб до амінокислотного аналізу проводили по Вінниченко О.М. (1975) та Рядчикову В.Г. (1978).

Амінокислотний аналіз проводили на автоматичних амінокислотних аналізаторах Т-339 (ЧСР) та Біотронік LC-5001 (ФРН) в режимах гідролізатів та фізіологічних рідин. В таблицях подані дані - середні з обліку 3-6 експериментів. Максимальне відхилення для амінокислот не перевищує, % : 1) гідролізати: Гіс, Мет, Іле, Тир, Фен $\pm 0,22$; Ліз, Арг, Тре, Сер, Гли, Вал $\pm 0,56$; Асп, Про, Лей $\pm 1,45$; Глу $\pm 3,15$; 2) фізіологічні рідини: Тау, ААК, Глі, Вал, АМК, Мет, Іле, Лей, Ала, АІМК, Орн, Ліз, Арг $\pm 0,45$; Тре, Сер, Тир, Фен, Трп, Гіс $\pm 2,00$; Асп, Глу, Про, Ала, ГАМК $\pm 3,45$; Асп, Гли $\pm 15,67$.

Екстракцію сумарних ліпідів, їх гідроліз та виділення жирних кислот і неспілених речовин із зерна, анатомічних частин та субклі-

тинних структур проводили по Кейтсу М. (1975). Виділення та аналіз ліпідів поверхневих тканин зерна проводили по Кнусовій С.Г. (1987). Розділення сумарних ліпідів на основні класи проводили методами тонкошарової хроматографії на платівках Сілуфол UV254 (ЧСР) з наступною ідентифікацією та кількісним визначенням фосфоліпідів і вільних жирних кислот по Кейтсу М. (1975).

Метиллові ефіри жирних кислот та неомилені речовини одержували в ефірних розчинах діазометану по Физер Л. (1979). Кількісний аналіз вмісту жирних кислот проводили методом газо-рідинної хроматографії на газових хроматографах Хром-4 та Хром-5 (ЧСР) з полум'яноіонізаційною детекцією, використовуючи в більшості випадків за внутрішній стандарт пентадеканову кислоту. Розділення метилових ефірів жирних кислот проводили на скляній колонці 0,04x2,5 м, заповненій 5% SP-2100 на Хроматоні N Супер 160-200 меш. в програмованому режимі від 150° до 270°C з швидкістю зміни температури 5 градусів в хвилину та металевій колонці 0,04x2,5 м, заповненій 10% ПЕГС на Хромосорбі Р 80-100 меш. в ізотермічному режимі з температурою термостата 195°C. Температура камери введення зразка в першому випадку складала 150°C, в другому - 250°C. Газ-носіє - гелій. Максимальні відхилення для жирних кислот від середньої величини, одержаної в обліку 3-6 експериментів. %: C11:0, C12:0, C15:1, C15:0, C21:0, C23:0, C25:0, C26:0 \pm 0,01; C17:0, C19:0, C22:0, C24:0 \pm 0,56; C16:0, C18:0 \pm 1,02; C18:1, C18:2 \pm 1,93; C18:1, C18:2, C18:3 \pm 3,15 для препаратів білкових тіл.

Виділення білкових тіл проводили по Christianson P.P. (1961). УФ-спектри та оптичну густину рідин в видимій області визначали на спектрофотометрі Spesord M-40 (НДР), ІЧ-спектри на Spesord M-80 (НДР). SDS-Електрофорез білків в ПААГ проводились по Леммлі Е. (1970), активність інгібіторів протеїназ - по Вовчуку С.В. (1987). Виділення пестицидів групи сим-триазинів із зерна і кукурудзи і вегетативних органів проводили екстракцією ацетоном за відомими методами (Методи визначення мікрокількостей пестицидів... за ред. Клісенко М.І., 1983) та методом високоефективної рідинної хроматографії на рідинному хроматографі високого тиску "Міліхром-4" (Lawrence I.F., 1978). Статистичну обробку експериментальних даних, кореляційний аналіз проводили на ЕОМ М-4 по Лакіну Г.Ф. (1980).

ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Вивчення амінокислотного складу зерна кукурудзи різних генотипів у зв'язку із стійкістю до екзогенних факторів.

Вивчали якісні та кількісні співвідношення між вільними та зв'язаними амінокислотами в процесі формування зерна кукурудзи, що дало можливість одержати найбільш контрастні характеристики для різних за стійкістю форм як в нормальних умовах вирощування так і в умовах пестицидного стресу. Зерно гібрида та ліній що вивчали значно відрізняється як по кількості, так і по складу вільних амінокислот. Так сумарна кількість вільних амінокислот зрілого зерна гібрида 118,04 мг%, звичайна лінія містить 491,3, а високолізинова - 1454,3 мг% цих речовин (рис. 1,2). Відрізняються досліджені форми також по динаміці накопичення в процесі формування зернівки та зміні вмісту при вирощуванні на ділянках з атразинам.

Якісний склад та кількість вільних амінокислот не відповідають складу білкових амінокислот на протязі формування зернівки, що

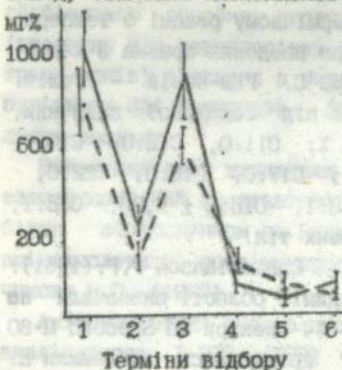


Рис. 1. Вміст вільних амінокислот в зерні кукурудзи Піонер 3978 М вирощеної на контрольних (—) та оброблених атразинам (---) ділянках в процесі вирівнювання

свідчить про їх багатofункціональність, та може бути показано парними коефіцієнтами кореляції (ПКК) білкова-вільна амінокислота. Для гібриду характерні досить високі значення ПКК (табл.1).

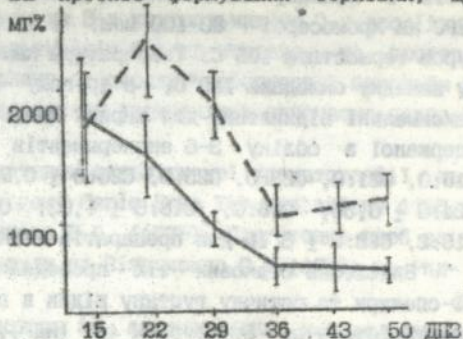


Рис.2. Вміст вільних амінокислот в зерні кукурудзи А 204 +/+ (—) та А 204 o2/o2 (---) в процесі вирівнювання

Вирощування кукурудзи на ділянках з високими дозами атразину,

Таблиця 1

Коефіцієнти кореляції деяких пар вільна - білкова амінокислоти кукурудзи в процесі формування зерна кукурудзи Піонер 3978 М, вирощеної на контрольних (1) та оброблених атразином: (2) ділянках*

Білкові	Ліз		Асп		Глу		Про		Ала	
Вільні	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Асп	0,72	0,66	0,55		0,51		0,71	0,59	0,61	0,53
Глу	0,65	0,74				0,57	0,53			0,56
Глн		0,91		0,75		0,57		0,79		0,93
Ала	0,66	0,92		0,65				0,79		0,83
Иле	0,73	0,81	0,85		0,62		0,67	0,80	0,68	0,67
Орн	0,81		0,56		0,64		0,92		0,80	
Ліз	0,71	0,77	0,64		0,57		0,63	0,92	0,58	0,58
Сума	0,74	0,91		0,62	0,64			0,80		

* Значення ПКК < | 0,50 | не приводяться

яке описано в експериментальній частині, являє собою приклад адаптації рослин до значної кількості ксенобіотику. Не дивлячись на значну кількість атразину в зерні досліджуваних форм (від 0,03 до 0,98 мг/г сухої ваги), рослини зберігали загальну кількість азотистих речовин в зернівці. Різкі зміни якості білків зерна гібриду Піонер 3978М (рис.3) в дослідних зразках в порівнянні з контролем мали місце на початку відбору, де знайдено значно збільшений вміст глютамінової кислоти і проліну. На другому етапі відбору дослідних рослин міститься майже вдвічі менше лізину. На останніх стадіях дозрівання вміст лізину і проліну практично однаковий, а глютамінової кислоти підвищений в порівнянні з контролем.

На відміну від гібрида, зерно досліджених звичайної та високолізинової ліній кукурудзи мало змінений амінокислотний склад на всіх етапах вирівняння. В порівнянні з контролем в досліджених рослинах значно підвищений вміст глютамінової кислоти: в середньому на 5-8%. В зерні високолізинової кукурудзи також підвищено вміст аспартату, що вказує на адаптивну реакцію цієї форми кукурудзи до атразину від звичайної форми. Процес накопичення цих амінокислот

г на 100 г сухої ваги

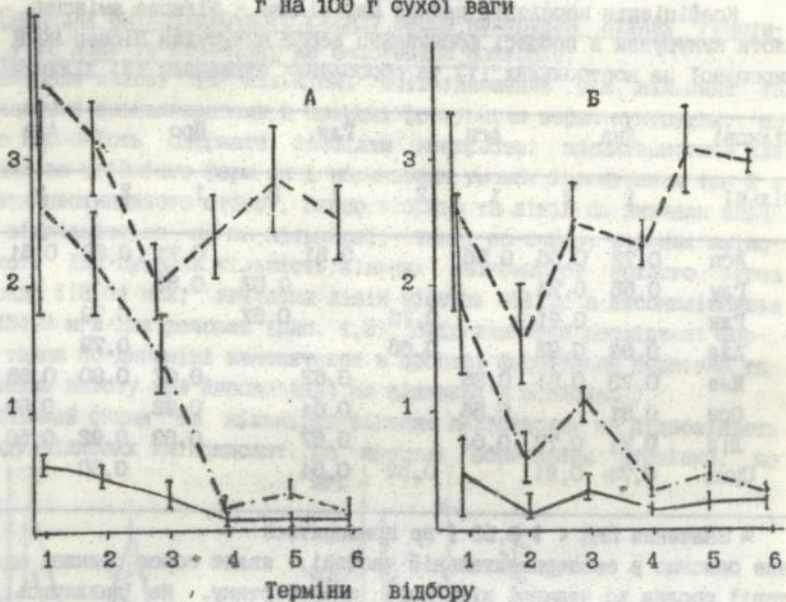


Рис. 3. Вміст білкових амінокислот в зерні кукурудзи гібриду Піонер 3978 М, вирощеної на контрольних (А) та оброблених атразином (В) ділянках. Ліз —, Глу — — —, Про — — — — наглядно демонструється застосуванням прямопропорційної моделі Ландрі-Муро (Landry J., 1984) (рис.4).

Якщо в зерні гібрида експериментальних рослин спостерігається зниження сумарної кількості вільних амінокислот в порівнянні з контрольними, то в ліній на всіх досліджених етапах розвитку спостерігається підвищена кількість вільних амінокислот: в середньому в 3-4 рази в звичайній та в 4-6 разів в високолізинової. Таким чином, амінокислотний склад зерна ліній кукурудзи значно більше змінюється, ніж гібрида на ділянках з внесенням гербіциду.

Кількість вільних амінокислот в цих рослинах знижується, а ПМК підвищується. В зерні ліній, вирощених у звичайних та дослідних умовах кореляційний зв'язок між вільними-зв'язаними амінокислотами майже відсутній, а для о2-форми характерні від'ємні значення ПМК. Високі позитивні значення ПМК білкова-вільна амінокислота для

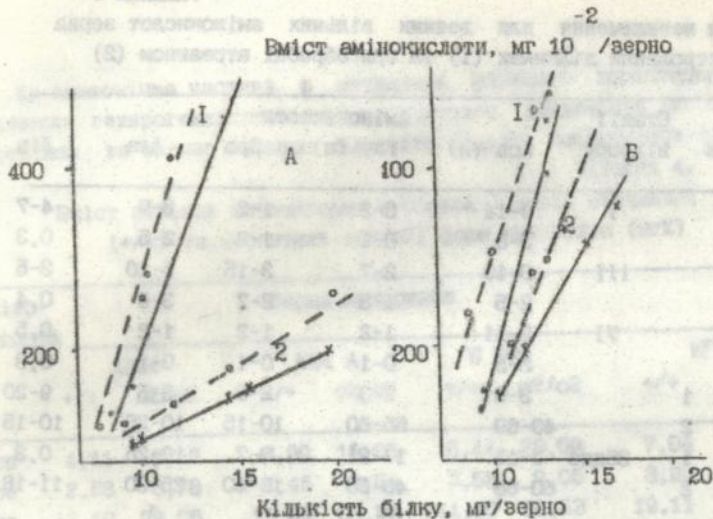


Рис.4. Накопичення глутамату (1), аспартату (2) в зерні звичайної (А) та високолізинової (В) кукурудзи, вирощеної на контрольних (—) та оброблених атразином (---) в ділянках. Гібрида характеризують процес формування білкового комплексу та фракції вільних амінокислот як узгоджені, в ліній - як незалежні один від другого процеси.

Для характеристики надмірності вмісту вільних амінокислот ми ввели індекс невключення для кожної вільної амінокислоти, який являє собою відношення її кількості до суми амінокислот в тих же одніцях на даному етапі розвитку (табл.2).

Ця величина контрастно характеризує форми, що ми вивчали. Так, в процесі вирівнювання зернівки відносно Глу(п), наприклад, для гібрида вона не перевищує 7%, для ліній звичайної кукурудзи 29%, а для високолізинової може досягати 60%. В досліді з атразином в гібриді ця величина знижується, а в ліній підвищується. В якісному плані для гібрида спостерігається відповідність вільних амінокислот складу білків, що синтезуються, а для ліній - невідповідність, особливо відносно глутаміну та аспарагіну.

Оболонка зерна (перикарп) повинна бути хімічним і фізичним бар'єром: щодо проникнення інфекції в зернівку. У висо-

Таблиця 2

Індекси невиключення для деяких вільних амінокислот зерна на контрольних ділянках (1) та при обробці атразином (2)

Форма кукурудзи	Стадія відбору	Амінокислоти				
		Асп (н)	Глу (н)	Про	Ала	Ліа
Піонер 1	I	9-14	0-2	1-2	3-9	4-7
		3-5	0-1	1-2	2-5	0,3
1	III	3-10	2-7	3-15	5-10	3-5
		2-5	1-3	2-7	3-6	0,4
1	VI	3-11	1-2	1-2	1-2	0,5
		3-5	0-1	0-1	0-1	0,3
A 204+/+	1	3-6	2-3	2-3	3-5	9-20
		40-60	55-60	10-15	10-25	10-15
A 204o2	1	36длв 9-15	17-21	3-7	18-26	0,3
		2	60-65	40-50	18-20	25-30

колізійних формах оболонка містить більше азоту, дикарбонових амінокислот, та висить більший внесок у вагу цілої зернівки (табл.3).

Таблиця 3

Вміст азоту, деяких зв'язаних амінокислот та ваговий внесок оболонки зерна звичайних та переведених на високолізійову основу форм кукурудзи

Форма кукурудзи	Вміст азота, %	Суха вага/ вага зерна, %	Вміст білкових амінокислот, %	
			Глу	Асп
A204 +/+	0,62±0,02	5,58±0,51	7,54	6,70
A204 o2/o2	0,76±0,03	7,55±0,53	10,97	9,36
W155 +/+	0,63±0,02	6,66±0,47	5,39	10,17
W155 o2/o2	0,90±0,04	8,15±0,52	10,58	10,95
WF9 +/+	0,63±0,01	5,93±0,34	8,41	10,96
WF9 o2/o2	0,70±0,01	6,67±0,36	10,18	11,95
W64A +/+	0,56±0,01	8,15±0,74	6,72	9,70
W64A o2/o2	0,75±0,04	8,96±0,63	10,48	10,95

Ця анатомічна частина в мутантних рослинах характеризується зміненою гетерогенністю білків, підвищеною активністю інгібіторів протеїназ та значно більшою кількістю вільних амінокислот (табл.4)

Таблиця 4.

Вміст вільних амінокислот в оболонці зерна звичайних (+/+) та мутантних (o2/o2) форм кукурудзи (мг%)

Аміно- кислота	Форма кукурудзи							
	A204		W54 A		W 155		Wf9	
	+/+	o2/o2	+/+	o2/o2	+/+	o2/o2	+/+	o2/o2
Асп	4,11	9,15	3,99	16,66	6,44	20,69	7,04	18,99
Тре	2,58	6,78	2,46	3,54	3,53	9,05	3,98	3,86
Сер	12,10	29,06	11,09	23,83	14,80	28,63	19,11	20,74
Асп	6,31	15,26	7,32	53,78	11,51	61,23	0,33	40,26
Глу	1,92	4,27	0,98	6,17	3,59	17,44	3,05	7,57
Гли	сл.	1,08	сл.	6,31	сл.	1,98	0,59	0,95
Про	5,51	7,93	6,08	15,95	7,52	22,72	6,28	10,04
Гли	5,80	15,57	4,13	7,02	6,49	11,38	8,71	8,06
Ала	4,70	10,49	10,53	28,56	10,53	27,02	12,07	23,98
Вал	1,05	4,99	1,02	3,30	4,73	5,04	3,55	6,87
Цис	0,46	0,61	0,63	1,36	0,90	4,87	0,30	1,41
Мет	сл.	0,43	0,04	0,42	0,42	0,45	сл.	0,41
Іле	1,48	4,23	1,36	2,60	1,58	3,71	3,76	2,01
Лей	1,48	4,23	1,11	2,01	1,45	3,58	3,75	1,05
Тир	1,65	7,72	1,63	7,72	1,92	4,04	4,43	2,30
Фен	4,39	5,97	3,96	6,98	4,82	6,26	2,51	5,29
Ала	2,80	1,66	3,48	3,56	3,27	6,25	сл.	4,95
ГАМК	1,28	1,32	1,96	7,97	6,78	17,34	6,20	11,58
Ори	3,75	11,77	3,64	3,69	5,56	7,49	5,28	6,44
Ліз	0,61	2,88	0,94	1,02	0,92	2,22	1,17	1,86
Гис	1,93	4,91	2,06	8,47	2,47	3,77	2,69	5,55
Три	сл.	2,90	сл.	3,62	сл.	1,59	0,56	1,91
Арг	сл.	1,57	сл.	1,21	0,76	1,64	0,74	1,00
Сума	63,91	154,78	68,41	215,75	69,99	268,39	96,10	187,06

в порівнянні із звичайними формами. Якщо порівняти з ендоспермом, в оболонці знаходиться в 5 разів менше вільних амінокислот на одиницю ваги, проте в о2 формах спостерігається значне зростання суми амінокислот (в 2-2,5 разів) в порівнянні із звичайними формами. По якісному складу вільні амінокислоти ендосперма значно відрізняються від амінокислот оболонки. Якщо в ендоспермі глутамін складає 10% (+/+) і 30% (о2/о2) амінокислотного пулу, то в оболонці зерна А 204 +/- він знаходиться з незначній кількості (лише сліди), а в А204о2/о2 складає лише 0,43% пула. В оболонці значну долю складають нейтральні низькомолекулярні амінокислоти (гліцин, пролін, валін). Наявність значної кількості в оболонках зерна о2/о2 форм вільних амінокислот-легкозасвоюваної форми азотовмісних сполук може бути причиною підвищеної ураженості зерна високолізинової кукурудзи грибовими захворюваннями, а також може свідчити про більшу проникненість мембран поверхневих тканин зерна цих форм. Ці спостереження стали основою для розробки тесту на стійкість зерна кукурудзи до захворювання фузаріозом, який оснований на екстракції вільних амінокислот водно-спиртовими розчинами з нерозмолотої зернівки в послідовним вимірюванням оптичної густини забарвлених нітгідрином розчинів. В таблиці 5 подані дані експериментів, проведених розробленим методом. Групи зразків N 1-6 та N 15-20 відносяться до звичайних та переведених на основу о2-форм, які характеризуються різною стійкістю до фузаріозу, що відмічалось вище. Зразки N 7-14, 21-28 одержані в процесі селекційної роботи в НДІ Кукурудзи м. Дніпропетровська. N 7-14 характеризуються стійкістю до патогену (захворюваність 0-25%), а N 21-28- 80%, що визначено фітопатологічними методами. Запропонований нами метод характеризується значною ефективністю, простотою в технічному відношенні та може істотно прискорити інтенсивність діагностики в селекційному процесі.

Вивчення амінокислотного складу вегетативних органів кукурудзи різних форм та його зміни під впливом зовнішніх факторів середовища.

Причиною високої продуктивності тропічних трав, якими являються кукурудза і сорго, є можливість могутнього відтоку азотовмісних речовин з листя в зернівку, яке починається в репродуктивну фазу (Курсанов А.Л., 1976). При цьому, найбільш суттєвим джерелом азо-

Таблиця Б. Величини оптичної густини екстрактів із зерна різних форм кукурудзи. Розраховано на 1г ваги

N	назва	Стійка форма		N	назва	Нестійка форма		Відношення	
		∅ 400нм	∅ 570нм			∅ 400нм	∅ 570нм	3/4	7/8
1	2	3	4	5	6	7	8		
1	A 204 +/-	7,21±0,56	5,20±0,06	15	A 204 о2/о2	14,98±1,23	10,40±0,93	2,05	2,07
2	W 64 A +/-	3,59±0,06	2,75±0,09	16	W64 A о2/о2	18,73±1,51	15,33±1,23	5,07	5,57
3	Wf 9 +/-	6,24±0,43	5,02±0,07	17	Wf 9 о2/о2	22,36±2,18	18,98±1,63	3,58	3,78
4	W 155 +/-	7,61±0,53	5,43±0,06	18	W 155 о2/о2	31,07±3,19	24,75±2,23	4,06	4,55
5	A 619 +/-	4,15±0,10	3,49±0,05	19	A 619 о2/о2	13,49±1,09	9,31±0,96	3,25	2,66
6	Cr 2 +/-	2,80±0,01	2,37±0,01	20	Cr 2 о2/о2	10,03±0,98	7,92±1,12	3,57	3,35
7	ДЛ 300	4,41±0,02	3,52±0,01	21	ДЛ 308	33,97±3,15	23,95±2,50	7,70	6,80
8	ДЛ 301	5,08±0,06	4,18±0,06	22	ДЛ 309	30,55±2,96	15,45±1,42	6,01	3,69
9	ДЛ 302	4,99±0,05	3,32±0,08	23	ДЛ 310	11,81±0,73	8,59±0,44	2,36	2,58
10	ДЛ 303	2,08±0,01	1,47±0,01	24	ДЛ 311	11,35±0,72	7,26±0,57	5,47	4,98
11	ДЛ 304	7,69±0,56	4,16±0,01	25	ДЛ 312	14,96±1,15	9,63±0,83	1,94	2,31
12	ДЛ 305	5,54±0,07	2,52±0,01	26	ДЛ 313	13,99±2,02	9,31±0,92	2,52	3,72
13	ДЛ 306	8,79±0,53	4,69±0,03	27	ДЛ 314	15,36±1,03	8,96±0,59	1,74	1,91
14	ДЛ 307	7,99±0,50	4,79±0,03	28	ДЛ 315	29,94±3,02	23,04±2,32	3,74	4,80

ДНБ ім. В. Стефаніка
АН Укр. Акад. Наук

товмісних речовин глян визрівачої зернівки являється листя верхнього ярусу. Фонд вільних амінокислот, який формується в процесі старіння листя, розглядається нами як наслідок складного, генетично зумовленого процесу, зв'язаного з формуванням зернівки на прикладі складу вільних амінокислот листя верхнього ярусу звичайної і переведеної на високолівинову основу лінії кукурудзи, а також гібрида Піонер 3978 М. Показано, що максимуми накопичення вільних амінокислот в листі верхнього ярусу та в зернівці в звичайних умовах вирощування співпадають по термінам часу. Зв'язані амінокислоти в білках флагового листя звичайної і о2-кукурудзи варіюють незначно в процесі визрівання зерна і характеризуються великими ПКК (приблизно 0,95) за винятком значень для глутамата в мутантних рослинах, що свідчить про порушення динаміки накопичення цієї амінокислоти в листі мутантів.

Сумарна кількість вільних амінокислот у флаговому листі в середньому в три рази менше, ніж в пробі середнього ярусу (рис. 5).

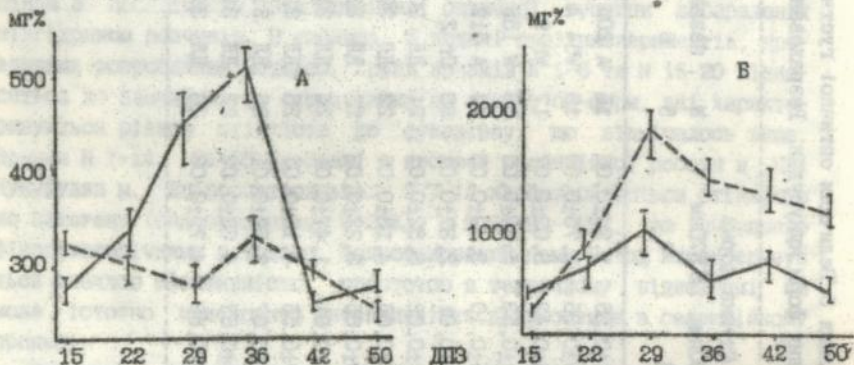


Рис. 5. Сума вільних амінокислот у флаговому листі (А) та в середній пробі листя верхнього ярусу (В) в процесі визрівання звичайної (—) та високолівинової (----) кукурудзи

В середніх пробах листя верхнього ярусу максимум накопичення в звичайній формі припадає на 29-й день після запліднення, а у флагових листях - на 36-й. В мутантних рослинах такий максимум майже відсутній. Загальна кількість вільних амінокислот в листях мутантних рослин в період максимального накопичення знижено за рахунок вільного проліну. Подібне явище не спостерігалось для проби се-

реднього листа. Таким чином, мутантний ген O2 впливає на диференціацію процесу накопичення асимілятів відносно розміщення листа. До того ж, на 15 ДЛЗ сума вільних амінокислот в листях обгортки складає для звичайної форми 211,90 мг%, а для високолізинової - 415,56 мг%. Якщо прийняти рівень накопичення вільних амінокислот як характеристику фізіологічної активності тканини листа (Ситник К.М., 1988), то в мутантних рослинах основне навантаження по біосинтезу амінокислот і забезпеченню асимілятами покладається на навколочаткові листя, флагові листя при цьому зберігають низьку активність. Фізіологічна доцільність такого перерозподілу не зовсім зрозуміла, хоча відомо, що інтенсивність відтоку поживних речовин з вегетативних органів в зернівку може змінюватися в різних умовах азотного живлення та зволоження (Третьяков Н.И., 1988).

Взагалі, вільні та зв'язані амінокислоти листа характеризуються низькими ПКК (табл.6), за винятком пар вільної ГАМК-зв'язані амінокислоти в обох формах кукурудзи.

Таблиця 6

Коефіцієнти кореляції деяких пар вільна - зв'язана амінокислоти флагового листа звичайної (1) та високолізинової (2) кукурудзи в процесі репродуктивного розвитку*

Вільні амінокислоти	Зв'язані амінокислоти											
	Ліз		Асп		Глу		Про		Ала		Лей	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Асп	-	0,60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,52
Тре	0,67	-	0,61	0,61	-	-	0,56	-	0,54	-	0,57	0,54
Глу	-0,52	-	-0,53	-	-0,54	-	-	-	-0,56	-	-	-0,54
Лей	-	0,50	-	0,61	-	-	0,55	-	-	0,65	-	0,50
ГАМК	0,78	0,75	0,76	0,77	0,75	-	0,68	0,65	0,73	0,86	0,75	0,79

* ПКК < |0,50| не приводяться

ГАМК не являється білковою амінокислотою, тому її тісний кореляційний зв'язок з білковими сполуками пояснити важко. Однією з гі-

позез на підставі вивчення її ролі в тваринних організмах (Ситинський І.А., 1977) може бути надання ГАМК ролі низькомолекулярного регулятора процесу біосинтезу - протеолізу білка. Можливість існування таких регуляторів в свою чергу може пояснити явище сенікації, при якому обробка верхнього ярусу листя злаків азотомісними речовинами, наприклад, сечовиною, приводить до посилення відтоку азоту з зернівки та підвищення врожаю на 10-15 %.

В листі кукурудзи, вирощеної на ділянках з атразином, на III етапі знайдено підвищений вміст азоту, що в переліку на білок становить 1-2% (рис.6А).

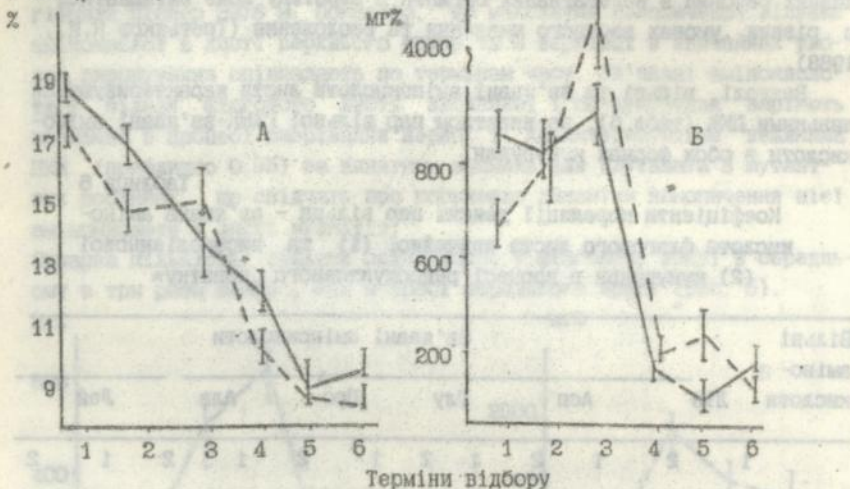


Рис.6. Вміст білка (А) та вільних амінокислот (В) в листі кукурудзи Піонер 397В М, вирощеної на контрольних (—) та оброблених атразином (- - -) ділянках

Пул вільних амінокислот на цьому ж етапі відбору також підвищений в дослідних рослинах в порівнянні з контрольними (рис.6Б) завдяки вибірково накопиченню вільного аспарагіну, який в деяких пробах досягає 95% суми вільних амінокислот. В зернівці не спостерігається підвищення вмісту вільних амінокислот, тобто має місце порушення відповідності динаміки накопичення вільних амінокислот в листі і зерні в дослідних рослинах, що на наш погляд має адаптивне значення. Оскільки в зерні не спостерігається такої реакції на атразин, то це

свідчить про тканиноспецифічність реакції інактивації чужерідних речовин в рослинах.

Гербициди групи сим-триазинів швидко поглинаються корінням стійких до них рослин, якою є кукурудза, і поширюються по всім органам. Вміст пестицида в тканині залежить від багатьох умов експеримента, але швидкість трансформації виконує провідну роль в феномені селективності (Чканіков Д.І., 1979). В наших експериментах ми спостерігали різну швидкість трансформації сим-триазинів в листі паростків різних генетичних форм кукурудзи, показану методами ГРХ і РХВД. В дослідних рослинах поряд із значною кількістю пестицидів не спостерігалось суттєвих змін у якісному та кількісному складі вільних амінокислот як в первинному, так і в листі більш дорослих паростків. Проте, багатократні експерименти з паростками 10-15-денного віку показали, що амінокислотний склад гідролізатів листя контрольних і дослідних рослин значно відрізняються (табл.7) і дали змогу зробити висновок, що основні зміни під впливом гербицидів мають місце в високомолекулярній фракції азотовмісних сполук рослинної клітини (перебудова білків, пептидів).

Таблиця 7

Різниця (дослід-контроль) у вмісті деяких амінокислот в гідролізатах листя паростків звичайної (1) та високолізинової (2) кукурудзи, вирощених на концентрованих розчинах пестицидів, %

Амінокислота	Симазин		Атразин		Прометрин	
	1	2	1	2	1	2
Ліз	-1,88	-1,12	-1,45	-0,94	-2,4	-1,22
Асп	-6,03	-6,29	-6,49	-8,85	-6,82	-11,27
Сер	-3,80	-1,90	2,48	-2,42	-4,07	-2,45
Глу	0,67	0,87	1,81	6,40	0,00	6,38
Про	0,38	0,74	0,18	0,21	0,89	-4,35
Ала	4,97	4,09	5,25	3,22	3,94	4,01

При цьому вивчення амінокислотного складу листя дослідних рослин дає змогу показати генотипову регуляцію процесу пептидної блокади, наприклад, в оз-рослинах під дією прометрина та атразина синтезуються

здебільшого глутамат-вмісні пептиди (білки) на відміну від звичайних форм. Різні адаптивні перебудови: з використанням транспортних форм амінокислот в фазу репродуктивного розвитку і переважне утворення пептидних кон'югатів на ранніх стадіях розвитку рослин, можна пояснити складністю процесу дезактивації, який є тканиноспецифічним і залежить від концентрації, будови молекули пестицида, стадії розвитку рослини і її генотипу.

Враховуючи те, що первинна фаза розвитку перспективна для відбору рослин за цінними сільськогосподарськими ознаками, ми вивчили динаміку вільних амінокислот ендосперма проростаючого зерна звичайної та переведеної на високолізинуову основу кукурудзи. Для ендосперму проростаючого зерна кукурудзи, на відміну від періоду виарівання, характерна наявність певного пулу вільних амінокислот з високим вмістом ароматичних амінокислот та лейцину, які не в такому ступені метаболізують (Lea P.J., 1983). Ці амінокислоти накопичуються в звичайному ендоспермі з більшою швидкістю, ніж в мутантному, а для дикарбонових амінокислот (швидкометаболізуючі амінокислоти) характерна протилежна закономірність, що пояснюється різним порядком використання (протеолітичного розкладу) запасних речовин цих форм. Для мутантного ендосперму спостерігались менший рівень накопичення вільних амінокислот починаючи з 3 доби пророщування і менша інтенсивність ростових процесів. Збитковий пул вільних амінокислот в мутантах, той фонд 1, який по теорії повинен використовуватися в першу чергу, (Ізмайлов С. Ф., 1986), може гальмувати первинні процеси пророщування внаслідок інгібування ферментів біосинтезу амінокислот, наприклад, групи аспартату, активність яких пригнічується деякими амінокислотами по механізму алостеричної регуляції (Lea P.J., 1983, Ленінджер А., 1985).

Враховуючи вищевикладене а також відомий величезний атрагуючий потенціал первинного листа злаків, очікувалось знайти залежність формування пулу вільних амінокислот первинного листа від генотипу рослини в звичайних умовах вирощування або при адаптації до екзогенних факторів, що могло бути біохімічним маркером певних властивостей генетичної форми.

Сумарна кількість вільних амінокислот первинного листа кукурудзи перевищує цю величину в фазу вегетативного розвитку рослин і навіть в період максимального накопичення амінокислот в репродуктивну фазу (табл. 8).

Таблиця 8

Вміст деяких вільних амінокислот в листі кукурудзи Піонер 3978 М на стадіях: 1-первинний лист; 2-фаза 7-8 листа; 3-період максимального накопичення вільних амінокислот в репродуктивну фазу, % від суми

Амінокислоти	стадії онтогенезу		
	1	2	3
Асп + Асн	34,2	26,7	71,2
Глу + Глн	9,0	8,1	7,9
Ала	12,9	21,7	6,1
Тир + Фен	3,7	1,3	2,9
β -Ала + β -АІМК	3,7	сл.	сл.
ГАМК	2,7	1,25	сл.
Ліз + Гіс + Арг	8,6	1,4	1,9
Сума, мг%	4505,46	827,5	2980,65

Однією з суттєвих відмін первинного листа від листа інших етапів розвитку кукурудзи є значна кількість основних, ароматичних амінокислот та β -амінокислот (табл.9). Синтез останніх в рослинах не вивчався, проте відомо, що β -аланін є попередником для біосинтезу кофериенту А. Вплив генотипу на склад амінокислотного пулу проявляється тут менше, ніж в зернівці, але в цьому відношенні первинні листя можна помістити на друге місце після листа в період репродуктивного розвитку. Найбільші розбіжності між генетичними формами відносяться до вмісту проліну та амідів дикарбонових кислот. Значна кількість вільних амінокислот, їх гетерогенність та незвичайний склад, простіть та швидкість одержання об'єкта досліджень дозволяють рекомендувати первинні листя кукурудзи як модель для вивчення механізмів біосинтезу амінокислот в тканинах рослин *in vivo*.

Досліджено процес накопичення вільних амінокислот в первинному листі різних генетичних форм кукурудзи в умовах інгібування росту розчинами NaCl. - відомий фактор, який спричиняє значну перебудову вільних амінокислот (Rhodes D. 1989). В останньому випадку в листі формується пул вільних амінокислот з підвищеною кількістю проліну, який не корелює зі ступінню адаптації певної генетичної форми, проте характеризується сильною залежністю від генотипу. Пул вільних амінокислот в дослідних рослинах зростає також завдяки значному накопи-

Вміст вільних амінокислот первинного листа різних форм, мг%

Аміно кислота	Гібрид			Гібрид			
	A204+/+	A204o2/o2	Піонер	П396	Дн-ський	F-2	ГК-26
1	2	3	4	5	6	7	8
Тау	37,89	22,70	48,97	42,43	19,16	16,43	115,67
Асп	117,87	66,92	123,84	104,87	281,52	20,03	185,18
Тре	68,18	80,79	103,95	78,53	257,94	26,30	95,26
Сер	167,91	193,14	208,96	171,73	341,02	121,43	191,07
Асп	1313,92	1157,34	1480,25	975,78	1135,53	348,42	2352,52
Глу	151,03	140,67	88,61	60,48	137,71	14,77	184,06
Глн	196,54	237,37	324,59	183,57	546,45	99,27	21,75
ААК	47,12	11,41	16,09	13,54	11,18		13,93
Про	115,30	205,99	60,17	153,23	57,49	105,39	210,35
Глі	90,30	107,55	129,61	84,01	137,74	84,61	152,34
Ала	520,64	627,49	571,09	528,70	661,75	402,23	854,85
Вал	245,74	233,82	218,25	382,42	364,17	178,57	235,85
Мет		28,86			153,64	33,59	18,41
Іле	66,28	68,39	109,58	83,35	138,30	81,59	117,61
Лей	58,32	81,08	129,76	115,94	71,32	71,07	102,84
Тир	130,73	84,58	77,41	108,94	119,46	43,23	85,63
Фен	67,60	103,84	64,53	63,71	100,98	82,55	110,22
Ала	86,22	42,40	43,49	76,83	54,38	43,05	57,63
АІК	161,19	141,45	125,79	115,65	186,16	174,06	146,04
ГАМК	138,07	133,42	125,89	171,96	184,77	104,86	134,34
Орн			4,55	3,89	41,11		4,86
Ліа	137,46	39,77	182,89	29,82	157,24	30,69	166,40
Гіс	281,09	126,26	153,01	44,92	165,05	165,05	155,79
Арг	33,36	50,71	52,63	25,38	81,19	90,39	73,12
Сума	4281,96	3985,99	4505,46	3601,52	5404,98	2338,21	5786,20

чення аспарагіну. Пророщування кукурудзи на розчинах солі, яке не спричиняє значного інгібування росту, але приводить до значної перебудови складу вільних амінокислот, також може бути використане.

для вивчення процесів біосинтезу амінокислот *in vivo*. Такі моделі можуть бути використані також в експериментах, де передбачається провідна роль формування пулу вільних амінокислот, наприклад, у взаєминах рослина - комаха (Araya F., 1991).

Таким чином, максимальні відмінності у складі амінокислот первинного листа кукурудзи різних генетичних форм як в звичайних умовах вирощування так і при адаптації до екзогенних факторів відносяться до вмісту вільного проліну, глутаміну та аспарагіну.

Дослідження складу ліпідів зерна, анатомічних частин та білкових тіл зерна кукурудзи різних форм.

Ліпіди зерна високолізинових та звичайних форм кукурудзи вивчено недостатньо, особливо, маючи на увазі різну стійкість форм до фузаріозу, інших захворювань та захисну роль ліпідних компонентів насіння проти патогенів.

Ліпіди зерна та анатомічних частин зерна чотирьох звичайних та чотирьох мутантних форм кукурудзи по даним ТШХ не мали особливих відмін у складі основних ліпідних фракцій. Проте, спектроскопічний аналіз фракцій ліпідів до і після гідролізу і фракціонування виявив деякі особливості о2-форм, також їх більшу насиченість. В ліпідах, виділених із зерна переведених на високолізиносову основу ліній, спостерігається зниження вмісту жирних кислот, здебільшого за рахунок олеїнової та лінолевої кислот. При цьому означена тенденція проявляється залежно від генотипу. Якщо для ліній А204 та Wf 9 це зниження не перевищує 9%, то для ліній W54 A і W155 становить 35% і 20% відповідно. Одержані нами дані відрізняються від опублікованих раніше (Poneleit C.G., 1972) внаслідок різних засобів одержання сумарної ліпідної фракції. При екстракції неполярними розчинниками одержуються переважно три- і дигліцериди, а застосування суміші Фолча приводить до вичерпної екстракції (95% ліпідів), включаючи полярні ліпіди. В першому випадку о2-форми, які мають збільшений розмір зародку, характеризуються більшим вмістом ліпідів запасного характеру. В наших експериментах одержується значна доля полярних (структурних) ліпідів.

Для зародку характерно, що вміст ліпідів приблизно в 10 разів більший, ніж в ендоспермі. В мутантних зрачках по-різному змінений жирнокислотний склад зародку та ендосперму відносно звичайних форм. Якщо в зародку мутантів лінолевої кислоти більше, то в ендоспермі о2

-форм має місце зниження кількості цієї жирної кислоти. Маючи на увазі різну біологічну активність ненасичених жирних кислот, можна зробити висновок про більшу фізіологічну активність зародку мутантів в порівнянні з звичайними формами, в той час як для ендосперму характерна протилежна закономірність. Неомилені речовини охарактеризовані методами ТПХ і ГРХ і показано їх змінений компонентний склад як для цілого верна, так і для анатомічних частин верна високолізисної кукурудзи. Характер виявлених відмін дає змогу віднести їх до змін в складі функціональних (структурних) ліпідів. При цьому ліпіди ендосперму характеризуються більш суттєвими змінами під впливом мутації, ніж ліпіди зародку.

В сумарній фракції ліпідів поверхневих тканин о2-форми, які одержані екстракцією хлороформом нерозмолотих зернівок, знаходиться менше фосfolіпідів, знижена кількість вільних С18 жирних кислот і спостерігається змінений ГРХ-спектр вуглеводнів та несмилених речовин. В жирнокислотному складі поверхневих ліпідів на відміну від складу інших анатомічних часток знайдено значну кількість низько та високомолекулярних кислот (табл.10). Характерною рисою є також насиченість, що підтверджується даними ІЧ-спектроскопії. В звичайних формах знайдено набагато більший вміст (в 1,9-2,8 рази) ненасичених С18 та високомолекулярних жирних кислот, ніж в мутантних, що підтверджено гз чотирьох парах ліній незалежно від року репродукції. Така ж закономірність була показана для контрастних по стійкості до фуваріову форм: в нестійких формах вміст ненасичених кислот значно зменшено в порівнянні із стійкими. Ці спостереження доповнюють уявлення про провідну роль будови поверхневих тканин зернівки в стійкості насіння до захворювань.

Одержання препаратів білкових тіл супроводжувалось амінокислотним аналізом та електрофоретичними дослідженнями, що необхідно для ідентифікації організмів. В сумарних ліпідах білкових тіл значне місце за даними ТПХ посідають фосfolіпіди, що відповідає літературним даним відносно ліпідів субклітинних структур. Ненасиченість ліпідів білкових тіл підтверджено ІЧ-спектроскопією та жирнокислотним складом (таб.11). Основна частина жирних кислот білкових тіл представлена С18 і С16 кислотами, серед яких найбільша доля належить лінолеївій

Вміст жирних кислот в поверхневих ліпідах зерна кукурудзи
(розраховано відносно вмісту C14:0)

Жирна кислота	W155		W64A		A204	
	+/+	o2/o2	+/+	o2/o2	+/+	o2/o2
C11:0	0,58	0,22	сл.	сл.	0,94	0,29
C12:0	0,14	0,44	сл.	0,13	1,40	0,23
C13:0	сл.	0,03	сл.	0,06	сл.	сл.
C14:1	сл.	сл.	0,27	сл.	сл.	сл.
C15:1	0,14	сл.	0,37	0,22	0,20	0,12
C15:0	0,70	0,89	0,37	1,02	0,65	0,65
C16:1	0,64	1,29	6,02	1,97	1,44	2,98
C16:0	3,63	5,40	7,57	5,54	9,80	8,05
C17:0	0,48	0,60	1,11	2,02	1,32	1,19
C18:1,2	5,40	2,90	9,37	4,84	17,84	6,31
C18:0	0,99	2,36	2,55	2,54	5,60	1,38
C19:0	0,13	0,22	0,70	0,59	0,48	0,58
C20:0	0,18	0,24	0,63	0,64	1,33	0,22
C21:0	0,13	0,24	0,35	0,29	0,81	1,08
C22:0	2,40	1,30	6,17	6,87	7,29	4,05
C23:0	0,12	0,20	0,79	0,41	0,39	0,92
C24:0	1,18	0,85	4,20	3,61	6,20	1,55
C25:0	1,09	0,60	12,56	3,11	2,48	2,17
C26:0	0,43	0,20	1,79	1,08	1,76	0,44

кислоті. Знайдено значну кількість насичених кислот, таких, як маргаритова, пента-, три- і нонадеканові кислоти, які в сумарних ліпідах знайдені в слідових кількостях. У високопродуктивного гібрида знайдено найбільшу ненасиченість ліпідів білкових тіл. В мутантних зразках спостерігається значне зменшення ненасичених жирних кислот (на 10 - 16%) в порівнянні із звичайними формами. Тобто, склад ліпідів білкових тіл контролюється генотипом і більші по розміру органели оточені шаром побудованим з більш ненасичених ліпідів. Маючи на увазі провідну роль ліпідного шару в захисті запасних білків від протеолізу, можна пояснити високолізисинний синдром як наслідок меншої за-

Таблиця 11

Склад жирних кислот сумарних ліпідів білкових тіл
ендосперму зерна різних форм кукурудзи в період спокою (1),
та на 5-й (2) дні пророщування, %

Жирна кислота	A204 +/+		A204 o2/o2		Гібрид Піонер3978M
	1	2	1	2	1
C11:0	-	0,67	-	1,63	1,82
C12:0	0,49	2,97	0,83	4,19	1,56
C14:0	1,43	2,42	2,33	5,84	0,94
C15:0	2,25	2,45	2,83	4,77	1,30
C16:1	4,08	3,91	3,56	3,68	4,29
C16:0	11,44	26,41	10,10	13,56	27,95
C17:0	0,19	2,91	6,62	7,99	0,52
C18:0	18,96	11,92	16,80	17,08	9,28
C18:1	10,85	6,45	9,15	8,36	10,05
C18:2	31,44	24,20	29,18	28,26	36,15
C18:3	4,15	3,55	3,14	3,64	3,58
C19:0	сл.	сл.	2,91	2,00	0,73
C20:0	2,15	3,57	2,92	сл.	1,82
C22:0	9,40	7,46	5,91	сл.	сл.
C24:0	2,26	1,73	2,41	сл.	сл.
насичених	48,47	61,89	54,97	56,06	45,92
ненасичених	50,53	38,11	45,03	43,94	54,08

хиженості запасних білків мутантів від протеолізу, що підтверджує теорію посттрансляційної модифікації зейнових поліпептидів за участю обмеженого протеолізу. Значна роль ліпідів білкових тіл від протеолітичного розкладу підтверджується також експериментами на проростаючому зерні. З'ясовано, що ненасиченість ліпідів зникає паралельно з розкладом запасних органел. Перебудова ліпідного комплексу відбувається узгоджено із швидкістю проростання зерна. Значно відмінний жирнокислотний склад ліпідів білкових тіл ендосперму різних форм кукурудзи, які характеризуються різною продуктивністю, стійкістю до екзогенних факторів, свідчить про їх певну роль в процесі синтезу запасного білка і доповнює механізм провідного біосинтетичного процесу ендосперму.

ОБГОВОРЕННЯ

Складні взаємини між пулом вільних амінокислот та білковими амінокислотами, що ми спостерігали, пояснюються різноманітністю, або компартментацією фонду вільних амінокислот. Амінокислоти фонду, який приймає участь у біосинтезі білків, можуть бути відокремлені мембранами або сорбовані на молекулах нуклеотидів, утворюючи з ними лабільні комплекси (Ісамйлов С.Ф., 1986). Різні за стійкістю форми кукурудзи, що ми вивчали, відрізняються по ступеню відповідності вільних амінокислот білковим в процесі формування зернівки та по кількості цих азотовмісних сполук на етапі повної стиглості в звичайних умовах вирощування і при адаптації до пестицидного стресу. На цей час не знайдено такого біохімічного позначника, який би так контрастно (в 4-10 разів) характеризував різницю між різними за стійкістю формами. На наш погляд, це можна пояснити тим, що 1) надмірне накопичення амінокислот гальмує процеси біосинтезу захисних сполук зернівки, оскільки амінокислоти являються алостеричними регуляторами багатьох ферментів (Lea P.J., 1983); 2) вільні амінокислоти - найбільш легкозасвоєвана форма азотовмісних сполук для патогенних мікроорганізмів та комах (Araya F., 1981).

Стійкість кукурудзи до сим-триазинів пояснюється активною дією глутатіон-S-трансферази (КФ. 2.5.1.18), яка перетворює фітоксичні молекули на неактивні метаболіти. Процес дезактивації також полягає в утворенні кон'югатів атразину і його метаболітів з короткими пептидами (Кахніампілі Х.А., 1989). Ферментативний розклад атразину проходить в досліджених рослинах із різною швидкістю в ряду: гібрид звичайна високолізінова лінія. Таким чином, можна говорити про наявність двох типів адаптивних механізмів в залежності від стійкості рослини. В першому випадку (механізм 1) швидкий процес дезактивації ксенобіотика супроводжується своєчасним виводом чужерідних сполук із сфери життєзабезпечуючих процесів, синтезом пептидів-кон'югаторів з використанням пулу вільних амінокислот (Lahdesmäki P., 1985). Підвищений вміст деяких зв'язаних амінокислот на кінцевому етапі розвитку зерна гібрида (наприклад, глютамінової кислоти) можна пояснити їх участю в утворенні кон'югатів. Менша швидкість дезактивації ксенобіотика в лінійках приводить до феномену "невключення", тобто до зменшення кількості запасних білків на користь фракції вільних амінокислот (механізм 2). Ці спостереження підтверджують теорію так

званого осмотично регульованого синтезу запасних білків (Tsai C.Y., 1983). З другого боку, цей механізм є фізіологічно доцільним, бо надмірне нагромадження вільних амінокислот створює осмотичний потенціал, який стримує надходження сторонніх речовин (Хочачка П., 1988). Збиткова кількість амінокислот у вільному стані гальмує синтез білків тваринних організмів завдяки посиленню процесу помилкового аміноацилювання тРНК (Гулий Ф.М., 1979). Зміну амінокислотного складу вегетативних органів кукурудзи під впливом сим-триазинів можна пояснити в експериментах з паростками - механізмом 1, а в експерименті з дозріваючою кукурудзою переважно механізмом 2. Наші дані показують, що процес дезактивації сим-триазинів в вегетативних органах кукурудзи включає перебудову азотовмісних речовин і цей процес залежить від фази розвитку, генотипу рослини, структури ксенобіотика та його концентрації.

Старіння листя кукурудзи в репродуктивну фазу розвитку - фазу, яка найбільш важлива для сільськогосподарської діяльності і моделі якої не існує (Соболев А.М., 1983) - в різних за стійкістю формах рослин супроводжується різним за кількістю і якістю процесом формування пулу вільних амінокислот. Наші спостереження відносно значного зниження кількості вільного проліну у флаговому листі о2-кукурудзи в цей період в порівнянні із звичайною формою можна зв'язати з формуванням високолізинового синдрому і, маючи на увазі репараційну, азоторезервну, регуляторну та ін. функції цієї захисної амінокислоти (Врітиков А.С., 1975), зробити припущення про її роль у формуванні феномену стійкості кукурудзи на цій фазі розвитку.

Фонд вільних амінокислот у листі в репродуктивну фазу розвитку - це результат динамічної рівноваги якнайменш між двома процесами біосинтезу-протеолізу білка листя (Куперман І.А., 1986). Ця рівновага може бути регульована, що підтверджує явище сенікації - обробка верхнього ярусу злаків азотистими речовинами з підвищенням врожайності зерна на 10-15%. Знайдений нами високий кореляційний зв'язок між ГАМК та білковими амінокислотами листя завдяки застосуванню вперше розробленого підходу: вивчення кореляційних зв'язків між вільними та зв'язаними амінокислотами - робить можливим припущення про її роль як регулятора процесів біосинтезу-протеолізу і відкриває можливість пошуку більш дешевих активних речовин-регуляторів в нап

рямку структурних аналогів ГАМК і управління продуктивністю сільськогосподарських рослин.

Пошук біохімічних особливостей, які б виразно характеризували різні за стійкістю генетичні форми, на ранніх етапах розвитку рослин, не виявив таких контрастних характеристик, як на зернівці та листі дозріваючої кукурудзи, проте виявив генотипічну обумовленість формування звичайного та адаптивного пулу вільних амінокислот первинного листа кукурудзи. Застосування сучасного хроматографічного методу аналізу амінокислот, який дозволяє розділити на катіонообміннику і кількісно визначити 37 нігдрімпозитивних сполук у складі фізіологічних рідин рослин, зробило можливим знайти β -амінокислоти в первинному листі 5-ти ліній і 2-х гібридів кукурудзи і зробити рекомендації по використанню цих моделей, які можна легко отримати, для теоретичних та прикладних досліджень.

Наявність значної кількості нейтральних вільних амінокислот в поверхневих тканинах зерна нестійких до захворювань форм, які можуть потрапляти в епідермальні тканини по механізмі пасивного транспорту стало основою способу визначення стійкості і наступних досліджень ліпідів зерна різних за стійкістю форм. На схемі зображено основні напрямки біосинтезу жирних кислот (ЖК) та компонентів восків в рослинах, відомі на цей час. Оскільки в нестійких формах в поверхневих та ендоспермальних тканинах знайдено більше ЖК з непарною кількістю атомів вуглецю, які синтезуються шляхом щеплення молекул ЖК з парною кількістю атомів вуглецю по механізмі α -щеплення, зроблено висновок про посилення цього біосинтетичного шляху в нестійких до хвороб рослинах (напрямок 3). В той же час, зменшена кількість ненасичених ЖК та високомолекулярних ЖК робить можливим припущення про зниження інтенсивностей процесів Δ 9-цис-десатурації (напрямок 4), який приводить до головної природної моноенової ЖК та Δ 12,15-цис-десатурації (напрямки 5,6, які відсутні в тваринних організмах, що є причиною дефіцита есенціальних ЖК), а також одної із систем подовження пальмітинової кислоти, які існують в вищих рослинах, і приводять до високомолекулярних ЖК (напрямок 7). Джерелом вуглеводнів та високомолекулярних спиртів в рослинах є молекули ЖК. Зниження високомолекулярних компонентів в восках нестійких форм може бути пояснено або нестатком вихідних вищих ЖК, або зниженням інтенсивностей процесів ω -окислення та декарбоксилювання (напрямок 9).

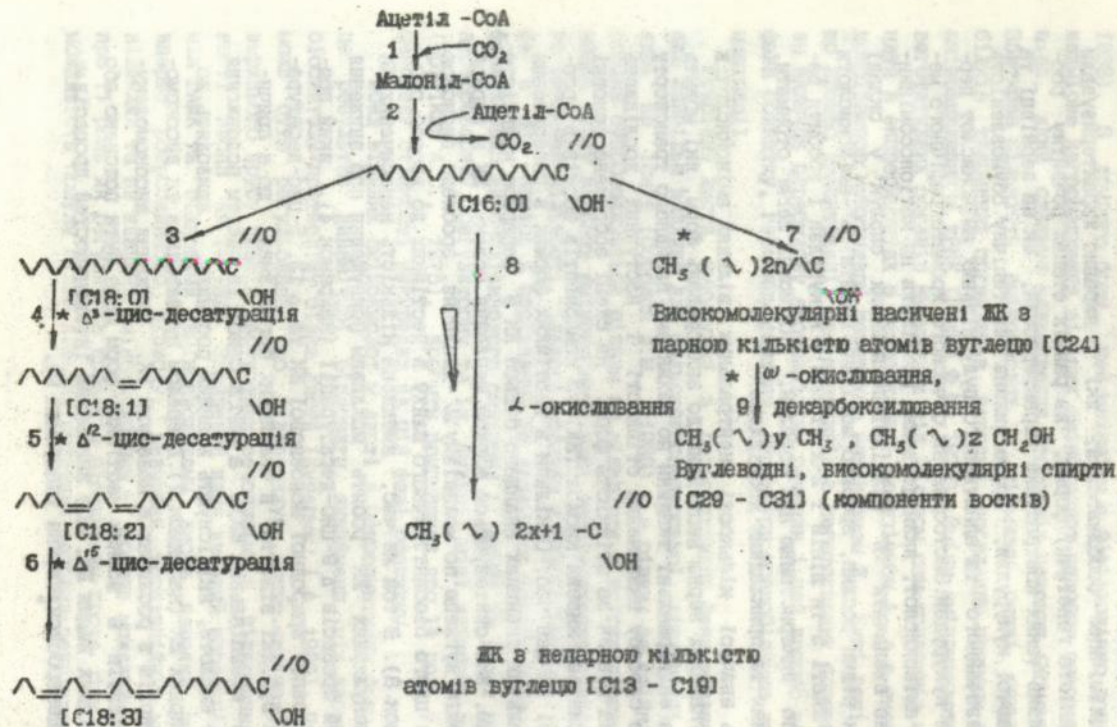


Схема 2. Напрямки біосинтезу найбільш поширених жирних кислот (ЖК) та деяких їх похідних в поверхневій та ендоспермальній тканинах зерна кукурудзи. \Rightarrow - посилення, * - зниження інтенсивності біосинтезу в нестійких до захворювань формах. В дужках містяться найбільш типові речовини.

ВИСНОВКИ

1. Процес формування амінокислотного комплексу зерна різних за стійкістю до екзогенних факторів форм кукурудзи характеризується певною динамікою накопичення зв'язаних та вільних амінокислот, відношення між якими може бути подано за допомогою індексів невиключення на різних стадіях розвитку зернівки, які характеризують ефективність використання вільних амінокислот у процесі біосинтезу запасних білків.

2. В умовах адаптації до пестицидного стресу має місце зміна амінокислотного складу зерна кукурудзи, ступінь якого залежить від генотипу рослини; для високопродуктивного гібриду характерна зміна амінокислотного складу на первинних стадіях розвитку зернівки та зниження пулу вільних амінокислот; для ліній виявлена зміна амінокислотного складу на всіх стадіях формування внаслідок збільшення кількості вільних амінокислот; найважливішими компонентами запасного пула амінокислот, сформованого в зерні дослідних ліній кукурудзи, є аспарагін та глутамін.

3. Перикарп зерна мутантних ліній характеризується в 2-2,5 рази більшим вмістом азоту, підвищеною активністю інгібіторів протеїназ, в 2-3 рази більшою кількістю вільних амінокислот в порівнянні з оболонкою зерна звичайних ліній. Наявність значної кількості вільних амінокислот - легкозасвоюваної форми азотовмістних речовин - в оболонці цих форм може бути причиною більшої ураженості зерна мутантів грибовими захворюваннями.

4. Кількість добутих ьінгїдрїнповитивних сполук з нерозмолотого зерна кукурудзи корелює із схильністю до захворювання фузаріозом, визначеною фітопатологічними методами, що стало основою розробки забору визначення стійкості кукурудзи до фузаріозу.

5. Показано вплив генотипу на процес накопичення амінокислот в листі кукурудзи верхнього ярусу. В репродуктивний період розвитку у біляпочатковому листі високолізїнових мутантів знайдено значно підвищений пул вільних амінокислот, а у флаговому листі значно зменшену кількість вільного проліну в порівнянні із звичайними лініями, що може бути зв'язано з формуванням феномену стійкості.

6. В період максимального накопичення вільних амінокислот в листі рослин, вирощених на оброблених атразином ділянках, виявлено підвищення вмісту вільного аспарагїну. На перших стадїях розвитку в

листі кукурудзи різних форм під дією сим-триазинів спостерігається зміна складу зв'язаних амінокислот при практично невмінному складі пулу вільних амінокислот, що можна пояснити інтенсивним процесом пептидної кон'югації; процес дезактивації ксенобіотиків, зв'язаний з перебудовою амінокислотного складу листа є тканинспецифічним, залежить від концентрації і будови молекули пестицида, стадії розвитку рослини і її генотипу.

7. Склад амінокислот первинного листа різних форм кукурудзи характеризується максимальним пулом вільних амінокислот, значним вмістом небілкових, ароматичних та основних амінокислот, що не має місця в вегетативних органах, зернівці на других стадіях розвитку рослини і дозволяє запропонувати первинне листя кукурудзи як зручну модель для вивчення механізмів біосинтезу амінокислот *in vivo*.

8. Визначено різницю у складі ліпідів зерна та його анатомічних частин звичайних та мутантних форм кукурудзи. Показано, що ліпіди зародку мутантів характеризуються більшою ненасиченістю ніж ліпіди звичайних форм; для ендоспермів вивчаємих пар вихідна-високоліпидова кукурудза знайдено зворотню закономірність.

9. Поверхневі ліпіди зерна кукурудзи $\alpha 2$ -форм містять знижену кількість С-18 ненасичених і високомолекулярних жирних кислот; неомилени речовини поверхневих ліпідів і вуглеводні поверхневих восків $\alpha 2$ -форм характеризуються зміненим відношенням компонентів в порівнянні із звичайними формами; визначені закономірності справедливі також для контрастних по стійкості до фузаріозу форм і доповнюють уявлення про провідну роль біохімічних властивостей поверхневих тканин зерна кукурудзи в стійкості насіння до захворювань.

10. Ліпіди білкових тіл зерна кукурудзи характеризуються ненасиченістю, значним внеском низькомолекулярних жирних кислот і залежністю складу від генотипу рослини; вміст лінолевої кислоти в ліпідах білкових тіл в зрілому зерні більший у форм з більшим розміром органел і зникається при пророщенні зерна, що підтверджує захисну роль ліпідів, асоційованих з запасуючими органелами, від протеолізу запасних білків.

СПИСОК ОСНОВНИХ ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ З ДИСЕРТАЦІЙНОЇ ТЕМИ

1. Штеменко Н.І. Триметилсилильні ефіри амінокислот для газо-хроматографічного аналізу // Тез. ІV УБХЗ, Дніпропетровськ, 1982. - С. 203-204.
2. Штеменко Н.И., Виниченко А.Н., Замсуева Л.Ф. и др. Исследо-

ние аминокислотного состава растительных белков методом газо-жидкостной хроматографии // Рукопись деп. ВИНТИ N 2735-84 Деп. 27.04.84. - 6с.

3. Штеменко Н.И., Винниченко А.Н., Прощая Е.Н. Изучение растворимости глицина методом газо-жидкостной хроматографии //Рукопись деп. ВИНТИ N 27735-84 Деп. 27.04.84. - 4с.

4. Винниченко А.Н., Феденко В.С., Коцюбинская Н.П., Штеменко Н.И. и др. Физико-химические методы в оценке зерна кукурузы // Вопросы химии и химической технологии: Сб. научн. тр. - Харьков, 1985. - Вып. 79. - С. 25-29.

5. Винниченко А.Н., Штеменко Н.И., Заморуева Л.Ф. Газо-жидкостная хроматография триметилсилильных эфиров аминокислот//Там же-С.19-22.

6. Штеменко Н.И., Кукушкин С.В., Заморуева Л.Ф. Газо-хроматографическое исследование поглотительной способности растений по отношению к хлорбензолу //Интродукция и экспериментальная экология растений: Сб. научн. тр. - Днепропетровск, 1985. - С. 98-103.

7. Штеменко Н.И. Исследование состава белков кукурузы методом газо-жидкостной хроматографии//Тез. докл. IV Всесоюз. научн.-техн. конф. молодых ученых по проблемам кукурузы-Днепропетровск, 1985. - ч.1. - С.78.

8. Винниченко А.Н., Штеменко Н.И., Заморуева Л.Ф. и др. Исследование биологических жидкостей, объектов окружающей среды методом газо-жидкостной хроматографии //Экологические основы воспроизводства биологических ресурсов степного Приднпровья: Сб. научн. тр. - Днепропетровск, ДГУ, 1986. - С. -10-14.

9. Винниченко А.Н., Коцюбинская Н.П., Штеменко Н.И. и др. Исследование молекулярных механизмов действия гена опейк-2 в связи с селекцией высоколизиновой кукурузы //Тез. докл. V Съезда генетиков и селекционеров Украины: Умань, 1986. - К.; 1986. - С. 66.

10. Vinnichenko A.N., Shtemenko N.I., Fedenko V.S. et al. Physical properties of mutant form maize proteins //3-rd Inter. Conf. "Physical properties of agricultural materials and their influence on design and performance of agricultural machines and technologies". - Prague, Checho-Slovakia. - 1985. - P. 615-617.

11. Винниченко О.М., Коцюбинська Н.П., Штеменко Н.І. Біохімічні дослідження високолізинової кукурудзи//Тез. доп. V УВХЗ, К., 1987. - ч.1. - С. 26.

12. Шупранова Л.В., Штеменко Н.І., Феденко В.С. Фізико-хімічні ха-

- рактеристики проламинів зерна кукурудзи // Там же. - ч. 2. - С. 320-321.
13. Винниченко А.Н., Шупранова Л.В., Штеменко Н.И. и др. Влияние гена опейк-2 на аминокислотный состав суммарного зеина и его электрофоретических компонентов // Молекулярные основы действия экзогенных и эндогенных факторов на организм: Сб. научн. тр. - Днепропетровск: ДГУ, 1987. - С. 5-15.
14. Винниченко А.Н., Штеменко Н.И., Харченко В.И. О специфическом на копленнии свободных аминокислот в листьях высоколизиновой кукурузы // Физиология и биохимия культ. растений. - 1988. - Т. 20, №3. - С. 281-296.
15. Винниченко А.Н., Шупранова Л.В., Феденко В.С., Штеменко Н.И. и др. Выделение и характеристика зеинового полипептида. - ХПС. 1988. - №4. - С. 612-613.
16. Винниченко А.Н., Штеменко Н.И., Феденко В.С. и др. Изучение состава липидов зерна кукурузы опейк-2 // Там же. - №3. - С. 360-363.
17. Vinnichenko F.N., Shtemenko N.I., Fedenko V.S. et. al. Physical properties of mutant form maize proteins // Physical properties of agricultural materials and products. - Hemisphere Publ. Corp. - 1988. - №4. - P. 615-617.
18. Vinnichenko F.N., Shtemenko N.I., Livenskaya O.A. et. al. Peculiarities of amino acid exchange and stored proteins structure of high lysine maize // Proc. Intern. Symp. Applied Plant Molecular Biology, Braunschweig. - 1988. - P. 95.
19. Vinnichenko A.N., Shtemenko N.I. About changing the amino acid ratio mechanism in maize // Ibid. - P. 96.
20. Vinnichenko A.N., Shtemenko N.I. Characterization of mutant maize lipids // Proc. Int. Conf. 2 ISBL, Tokyo, Japan. - 1988. - P. 73.
21. Винниченко А.Н., Штеменко Н.И. Особенности аминокислотного обмена высоколизиновой кукурузы: Монография. - М., 1989. - 268 с. - Деп. в ВИНТИ, 19.01.89, №422-В89.
22. Винниченко А.Н., Штеменко Н.И., Харченко В.Н. Влияние рецессивного аллеля опейк-2 на накопление свободных аминокислот зерна кукурузы // Биологическое науки. - 1989. - №1. - С. 96-101.
23. Винниченко А.Н., Шупранова Л.В., Штеменко Н.И. и др. Выделение и характеристика полипептида зеина с молекулярной массой 21600 // Биохимия. - 1989. - т. 54, №12. - С. 2042-2045.
24. Винниченко А.Н., Шупранова Л.В., Штеменко Н.И. и др. Выделение и биохимическая характеристика зеина кукурузы опейк-2 // Физиология и

биохимия культ. растений.-1989.-т.21,№4.-С.388-393.

25.Штеменко Н.И., Харченко В.Н., Мякшина Е.В. Исследование аминокислотного обмена вегетативных органов обычной и высоколизиновой кукурузы //Биохимические аспекты действия мутантных генов на белки кукурузы: Сб. научн. тр. - Днепропетровск.-1989.-С.80-90.

26.Штеменко Н.И., Заморуева Л.Ф., Вузский Ю.И. и др. Характеристика липидного комплекса анатомических частей зерна обычной и высоколизиновой кукурузы //Там же.-С.111-121.

27.Vinnichenko A.N., Shtemenko N.I., Livenskaya O.A. et. al. Investigation of high lysine maize zeins //Abstract book 19-th FEBS Meeting, Rome.-1989.- Т:299.

28.Vinnichenko A.N., Shtemenko N.I., Zamorueva L.F. About coat lipid composition of maize grain ordinary and mutant form //Ibid.-R. TN298.

29.Винниченко А.Н., Штеменко Н.И. Особенности аминокислотного обмена высоколизиновой кукурузы //Биологические науки.-1990.-№2.-С.98-112.

30.Винниченко А.Н., Штеменко Н.И., Заморуева Л.Ф. и др. Состав жирнокислотной части зернов раа различных степени очистки //ХПС.-1990.-№2.-С.187-189.

31.Винниченко А.Н., Штеменко Н.И. Заморуева Л.Ф. Жирные кислоты поверхностных липидов зерна кукурузы обычных и высоколизиновых форм // Там же. - №3.-С.262-265.

32.Винниченко А.Н., Штеменко Н.И. Динамика накопления аминокислот в зерне различных форм кукурузы //Физиология и биохимия культ. растений -1990 -т.22,№3.-С.287-290.

33.Винниченко А.Н., Штеменко Н.И. Биохимические исследования растений с измененным генотипом //Сельскохозяйственная биология: Сб. научн. тр.- Кишинев.-1990.-С.32-39.

34.Винниченко А.Н., Штеменко Н.И., Заморуева Л.Ф. и др. Методы повышения питательной ценности белков кукурузы //Тез.Респ.Конф. Елтехнология получения кормового белка, экологически чистых препаратов, повышающих урожайность, премиксов, ферментов и витаминов кормового назначения.-Днепропетровск,1990.-С.33-34.

35.Штеменко Н.И., Винниченко А.Н., Заморуева Л.Ф. и др. Физиолого-биохимические процессы у растений кукурузы с измененным генотипом в экстремальных условиях среды //Тез. I Всес. научн. Конф. Растения

и промышленная среда. - Днепропетровск, 1990. - с.149.

36. Винниченко А.Н., Штеменко Н.И. Регуляция процессов накопления аминокислот в растениях с измененным генотипом //Тез. докл. Межресп. научн.-техн. конф. Проблемы азотистого метаболизма. - Волгоград, 1990. - С.46-47.

37. Штеменко Н.И., Винниченко А.Н., Заморуева Л.Ф. и др. Состав липидов анатомических частей и белковых тел зерна кукурузы с измененным генотипом //Тез. докл. VII Всес. Симп. Молекулярные механизмы генетических процессов. - М. 1990. - С.185-186.

38. Винниченко А.Н., Штеменко Н.И., Заморуева Л.Ф. и др. Генетико-биохимические механизмы адаптации растений кукурузы с измененным генотипом к экстремальным факторам среды //Тез. докл. VI Научно-практ. Всес. Конф. Механизмы адаптации животных и растений к экстремальным факторам среды. - Ростов-на-Дону, 1990. - с.183.

39. Vinnichenko A.N., Shtemenko N.I., Zamorueva L.F. Biochemical aspects of gene expression in ordinary and mutant maize plants // Abstract book 20 FTBS Meeting. - Budapest, 1990. - P-th 479.

40. Shtemenko N.I., Vinnichenko A.N., Zamorueva L.F. Lipids and proteins of seed-coat of different maize forms //Ibid. - P-th 554.

41. Штеменко Н.И., Винниченко А.Н., Заморуева Л.Ф. и др. Некоторые аспекты адаптации растений кукурузы к антропогенным воздействиям // Тез. докл. Всес. совещания Клеточные механизмы адаптации. - Чернигов, 1991. - Цитология. - 1991. - т. 33, №5. - с.144.

42. Штеменко Н.И., Винниченко А.Н., Мажара С.В. Мутация и аминокислотный состав вегетативных органов кукурузы / Докл. ВАСХНИЛ. - 1991. - №9. - С.20-26.

43. Штеменко Н.И., Винниченко А.Н., Мажара С.В. и др. Генотипические реакции кукурузы при адаптации к пестицидному стрессу //Тез. докл. IV Всес. научн. конф. Экологическая генетика растений, животных, человека. Кишинев: Штиинца. - 1991 - с.219.

44. Штеменко Н.И. О корреляционных взаимосвязях свободная-связанная аминокислоты в зерне и в вегетативных органах кукурузы //Адаптация растений в антропогенных условиях: Сб. науч. работ. - Днепропетровск. - 1992. - С.110-120.

45. Штеменко Н.И., Винниченко А.Н., Матюха Л.А. и др. Накопление свободных аминокислот в зерне кукурузы под действием атразина //Цитология и биохимия культ. растений. - 1992. - т. 24, №2. - С.163-168.

46. Штеменко Н.І., Вінниченко О.М., Мажара С.В. та ін. Вивчення амінокислотного складу кукурудзи у зв'язку з стійкістю до екзогенного впливу //Тез. доп. VI УБХЗ. - Київ: УЗГАІ, 1992. -с.10.

47. Штеменко Н.І., Вінниченко О.М., Заморуєва Л.Ф. та ін. Склад ліпідів субклітинних часток зерна деяких форм кукурудзи //Там же. - с.71.

48. Вінниченко О.М., Штеменко Н.І., Заморуєва Л.Ф. та ін. Амінокислотний та ліпідний склад кукурудзи в умовах пристосування до екзогенного впливу //Тез. доп. IX з'їзду Укр. ботан. тов. Київ: Наукова думка, 1992. -с.269.

49. Штеменко Н.И., Винниченко А.Н., Мажара С.В. и др. Влияние атразина на накопление аминокислот зерна кукурузы // Биологические науки - 1992. - №10. - С.92-97.

50. Заморуєва Л.Ф., Штеменко Н.И., Винниченко А.Н. Газо-хроматографические исследования восков в листьях кукурузы в связи с устойчивостью к пестицидному воздействию //Тез. докл. научно-практич. конф. Экологические проблемы аграрного производства. - Днепропетровск, 1992. -с.139.

51. Shtemenko N. I., Zamorueva L. F. Lipids of maize grain of different forms // Abstr. Book of VI FAO Congress, Shanghai, 1992. - P. IX -26.

52. Vinnichenko A. N., Shtemenko N. I. Investigation of maize grown on pesticide treated fields // Ibid. - P. IX-30.

53. Shtemenko N. I., Vinnichenko A. N. Biochemical shifts in maize grain under pesticide stress // Abstr. Book of 2-nd Tur. conf. on Ecotoxicology. - Amsterdam, The Netherlands, 1992. - P. 2-41.

54. Штеменко Н.И. Состав аминокислот кукурузы, выращенной на пестицидном фоне / Тез. докл. м-нар. научн. конф. Промышленная ботаника: состояние и перспективы развития. - Кривой Рог, 1993. -С.148-149.

55. Штеменко Н.И. Аминокислоты кукурузы-Днепропетровск, ДГУ-1993-1996с.

Авторські свідчення на винаходи по темі дисертації

1. Вінниченко А.Н. Штеменко Н.И., Заморуєва Л.Ф., Кукушкина И.В. Способ определения биологической ценности растительных белков. Авторское свидетельство N 1669982 от 15.04.91.

2. Вінниченко А.Н., Штеменко Н.И., Заморуєва Л.Ф., Кукушкина И.В. Способ получения белковой добавки. Авторское свидетельство N 17346466 от 23.05.92.

3. Штеменко Н.И., Винниченко А.Н., Заморуєва Л.Ф. и др. Способ определения устойчивости зерна к фузариозу. Авторское свидетельство N 17841440 от 1.09.92.

AB 29.352

mln. дгзак 43 мип. 100