CZU: 633.15:631.5:631.8 https://doi.org/10.53040/ppap2023.44

ACTIVITATEA CATALAZEI, PEROXIDAZEI ȘI PEROXIDĂRII LIPIDELOR ÎN RĂDĂCINILE PORUMBULUI SUB INFLUENȚA ȘOCULUI TERMIC ȘI A PREPARATLUI REGLALG

CAUȘ Maria[1*], DASCALIUC A[1**]., BOROZAN P.[2***]
[1]*Institute of Genetics, Physiology & Plant Protection of SUM, Chisinau, Republic of Moldova*
[2]*Public Institution „Porumbeni" Institute of Phytotechnics*
**https://orcid.org/0000-0001-7914-3482,*
*** https://orcid.org/0000-0003-3210-6144,*
**** https://orcid.org/0000-0002-4142-2918,*
e-mail: mcaus2021@yahoo.com

Summary. In recent years, due to the climate changes, the growth and development of corn is affected by heat stress, especially at an early stage of ontogeny. Influence of biostimulant Reglalg, used for seed pretreatment of maize hybrids Por. 310 and Por. 374 before exposure to heat shock (HS) at 50°C for 30 min, on catalase (CAT), peroxidase (PO), and lipid peroxidation (LPO) of root seedlings was studied. Compared to the Reglalg variants, root growth of control seedlings was more strongly affected by HS, since the activity levels of CAT, PO and MDA content in the roots were higher. This demonstrates the beneficial effects of Reglalg in increasing maize tolerance to HS.

Keywords: *Catalaze, peroxidase, lipid peroxidation, maize roots, heat shock, Reglalg,*

Introducere. Stresul termic este unul dintre factorii importanți în desfășurarea fenomenelor asociate schimbărilor climatice globale (10). Impactul negativ al stresului termic supraoptimal în plante este însoțit de producerea în exces a speciilor reactive de oxigen (SRO), care cauzează perturbări structurilor celulare cu deteriorarea ulterioară a membranelor și activarea peroxidării lipidelor (7) Aceste fenomene conduc la deteriorarea oxidativă, care ulterior are un impact semnificativ asupra creșterii, dezvoltării și productivității plantelor, inclusiv și a porumbului (6, 7, 5, 11). Diferite specii de plante reacționează în moduri diferite la schimbările stresante ale mediului. În plante are loc formarea mecanismelor protectoare de adaptare, inclusiv sunt

induse reacții de protecție enzimatică și ne enzimatică (7, 9, 11). Cu toate acestea, pentru a menține activitatea celulară la un nivel optimal, pentru sporirea rezistenței la condițiile adecvate, este necesar de menținerea unui echilibru între peroxidarea lipidelor și a sistemului de apărare antioxidantă (12). Pentru a activa etapele inițiale de germinare, ritmul de creștere și formarea unui sistem radicular puternic, care ar putea ulterior influența benefic întregul curs al ontogenezei plantelor în practica agricolă se utilizează metoda tratării semințelor înainte de semănat cu biostimulatori de creștere (4).

Scopul acestui studiu a fost de a studia protecția antioxidantă enzimatică și peroxidarea lipidelor (LPO) în rădăcinile plantulelor de porumb crescute din semințe pre tratate cu șoc termic și preparatul Reglalg.

Materiale și metode. Studiul a fost efectuat în laboratorul Biochimia plantelor al IGFPP, USM utilizând semințele de porumb a hibrizilor Porumbeni (Por.), inclusiv Por. 374 și Por. 427. Semințele înainte de plasarea la germinare au fost tratate cu biostimulatorul Reglalg (Reg. doza 1/50) și ulterior expuse șocului termic (ȘT) supraoptimal de 50°C, cu durata de 30 min. Semințele martor (M) netratate cu ȘT și Reglalg (Reg.) și cele experimentale au fost plasate pentru germinare în condiții controlate de laborator, la întuneric, umiditatea relativă a aerului de 60-70 %. Germinația semințelor s-a efectuat pe apă distilată. Rădăcinile au fost selectate de la plantele de porumb cu vârsta de 5 zile.

Obținerea extractelor proteice. Extractele proteice pentru determinarea activității enzimatice au fost obținute prin macerarea rădăcinilor variantelor martor și experimentale în soluția tampon de 0,05 M fosfat de sodiu, cu adaos de 1.5% (w/v) polivinilpolipirolidon, 1mM EDTA și 0,5 mM fenilmetilsulfonilflorid, pH 6,8. Raportul dintre masa rădăcinilor și volumul soluției de extracție a fost de 1:2. Proteinele solubile extrase au fost separate prin centrifugare la 4°C, 16 000 g pe parcursul a 15 min. Superatentele obținute au fost folosite pentru determinarea activităților enzimatice.

Activitățile catalazei (CAT) și a peroxidazei (PO) enzime cheie de protecție antioxidantă, au fost determinate în extractele proteice prin metoda spectrofotometrică, în conformitate cu metodele descrise anterior (2).

Determinarea *di-aldehidei malonice* (MDA). Deteriorarea oxidativă a lipidelor rădăcinilor plantulelor de porumb rezultate în urma pre tratării semințelor cu ȘT a fost estimată prin conținutul total de substanțe active ale acidului 2-tiobarbituric exprimat ca echivalenți de malondialdehidă - MDA.

Conținutul de MDA a fost calculat utilizând coeficientul său de absorbție (ε) și exprimat ca nmol MDA g^{-1} masa proaspătă (3).

Analiza statistică a datelor a fost efectuată cu utilizarea programelor „*Statistica 7*" pentru computer, folosind *Basic Statistics*, calculând valorile medii și devierea standard a datelor determinate în trei repetiții

Rezultate și discuții. Se cunoaște că evoluția proceselor de germinare, creștere și dezvoltare a plantelor este însoțită de formarea speciilor reactive de oxigen, care în cantități excesive, datorită acțiunii diferitor factori de stres exercită un efect dăunător asupra organismului vegetal (5, 10). Un rol important în anihilarea SRO excesive îl au enzimele antioxidative Catalaza (CAT) și peroxidaza (PO). Evaluarea modificării activităților enzimatice a CAT și PO în rădăcinile plantulelor de porumb, crescute din semințe pre tratate cu preparatul Reglalg înainte de germinare și expunerea lor ulterioară acțiunii ȘT de 50°C, cu durata 30 min sunt prezentate în figura 1.

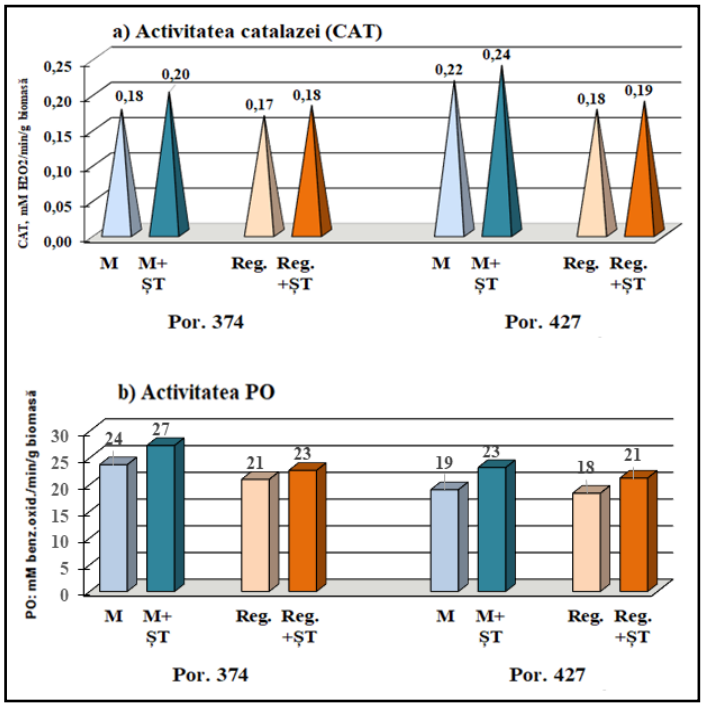


Figura1. Modificările activității enzimatice a peroxidazei (PO) și catalazei(CAT) în rădăcinile plantulelor de porumb, crescute din semințe pretratate cu preparatul Reglalg și șocul termic (ȘT) de 50°C, cu durata 30 min. Vârsta plantulelor – 5 zile.

Determinarea activității enzimatice la a 5-a zi de recuperare după aplicarea ȘT (figura 1a) demonstrează că nivelul activității CAT în variantele cu ȘT (M+ȘT) este mai mare, comparativ cu variantele martor (M) pentru ambii hibrizi, Por. 374 și Por. 427. Aceasta indică, că ȘT aplicat semințelor înainte de germinare crează condiții de stres, care ulterior afectează creșterea rădăcinilor, și care după cum observăm, procesele de recuperare nu au atins nivelul variantei martor (M) pentru ambii hibrizi. Tot odată, în variantele cu utilizarea preparatului Reglalg pentru tratarea semințelor înainte de germinare și expunerea lor acțiunii ȘT (Reg.+ȘT) activitatea CAT este la un nivel mai mic, comparativ cu variantele martor (M+ȘT), atât pentru Por. 374, cât și Por. 427. Acest efect, indirect indică faptul, că aplicarea Reglalgului diminuează crearea condițiilor stresogene în celule, care pot fi însoțite de producerea în exces a SRO. Evaluarea activității enzimatice a PO (fig. 1b) demonstrează că nivelul activității PO în variantele cu Reg. și Reg.+ȘT este mai mic, comparativ cu variantele martor (M și M+ȘT) pentru ambii hibrizi, Por. 374 și Por. 427. Rezultatele obținute indirect demonstrează că nivelul de SRO în celulele rădăcinilor crescute din semințe expuse ȘT (M+ȘT și Reg.+ȘT) înainte de germinare este mai mare, comparativ cu variantele martor (M și Reg.). Așa dar, aplicarea ȘT semințelor înainte de germinare induce majorarea activităților CAT și PO, implicate în anihilarea excesului de SRO, creat de condițiile stresogene ale ȘT. Dar utilizarea preparatului Reglalg în doză de 1/50 pentru tratarea semințelor înainte de expunerea la ȘT are un efect benefic asupra reducerii daunelor cauzate de acțiunea ȘT în stadiile incipiente de dezvoltare a plantelor de porumb.

În ceea ce privește răspunsurile fiziologice ale porumbului crescut din semințe pretratate cu șoc termic, a fost de interes să se determine influența acestui factor asupra peroxidării lipidelor. Se cunoaște că membranele celulare joacă un rol esențial în funcționarea plantelor, determinând forma și proprietățile celulelor, asigurând identificarea și transmiterea semnalelor despre impactul negativ al factorilor de mediu, reprezentând astfel prima linie de apărare a plantelor (8). Efectul ȘT de 50°C cu durata de 30 min aplicat semințelor de porumb înainte de germinare asupra peroxidării lipidelor din membranele celulare a rădăcinilor a fost măsurat prin determinarea produsului final al oxidării lipidelor- conținutul de malondialdehidă (fig. 2).

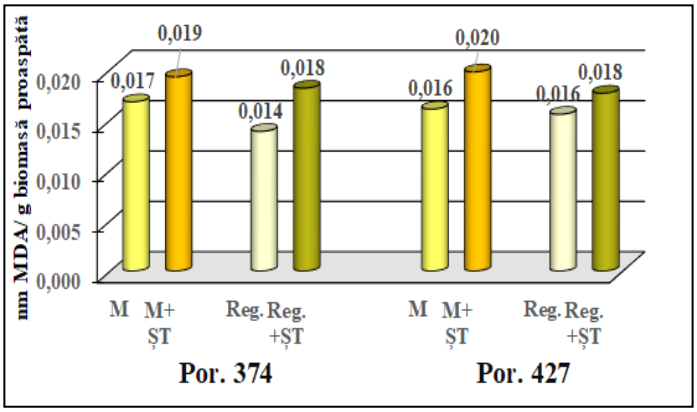


Figura 2. Schimbările conținutului de malondialdehidă (MDA) în rădăcinile plantulelor de porumb hibrizilor Por. 374 și Por. 427 în dependență de pretratarea semințelor înainte de germinare cu preparatul Reglalg și ȘT de 50°C, cu durata de 30 min. Vârsta plantulelor – 5 zile.

Rădăcinile plantulelor de porumb Por. 374 și Por. 427 obținute din semințe expuse acțiunii ȘT de 50°C cu durata de 30 min au fost deteriorate, fapt confirmat de un nivelul mai înalt al conținutului de MDA (fig. 2). Rezultatele obținute sugerează faptul, că acești hibrizi de porumb au reușit să-și mențină creșterea după acțiunea ȘT, datorită capacității lor superioare de a face față daunelor oxidative cauzate de stresul termic, comparativ cu variantele martor. Valorile mai sporite a conținutului de MDA în rădăcinile plantulelor variantelor M+ȘT, precum și Reg.+ȘT, demonstrează că la a cincea zi de recuperare, după aplicarea ȘT în ambele variante indicate deteriorările din membranele celulare încă nu sau restabilit complet. Deși, după cum se observă din figura 2 în variantele cu utilizarea preparatului Reglalg nivelul conținutului de MDA este la același nivel sau mai mic pentru ambii hibrizi, comparativ cu martorii M și M+ȘT. Așadar, aplicarea preparatului Reglalg la tratarea semințelor înainte de expunerea acțiunii ȘT are un efect benefic asupra restabilirii reacțiilor fiziologice din membranele celulare, rezultate în urma acțiunii ȘT. Rezultatul măsurărilor conținutul MDA în rădăcinile plantulelor de porumb, cu vârsta de 5 zile au demonstrat că conținutului MDA în variantele cu aplicarea Reglalgului, atât în condiții normale, cât și cu ȘT are tendința de a fi la un nivel mai scăzut. Limitarea proceselor de oxidare și menținerea stării structurale și funcționale a membranelor se realizează în principal datorită activității sistemului de protecție antioxidantă, inclusiv cu participarea CAT și PO (1) .

Concluzii:

1. Stresul șocului termic (ȘT) de 50°C, cu durata de 30 min aplicat semințelor de porumb înainte de germinare a cauzat inducerea activității catalazei (CAT), peroxidazei (PO) și conținutului de malondialdehidă (MDA) în rădăcinile plantulelor de porumb, demonstrând disfuncții în metabolismul sistemului celulelor radiculare.
2. Preparatul Reglalg, utilizat pentru tratarea semințelor de porumb înainte de expunerea lor acțiunii ȘT, a demonstrat un efect benefic asupra desfășurării metabolismului celular și lipidic din membranele celulelor radiculare, manifestându-se prin nivelul mai mic al activității CAT, PO și conținutului MDA.
3. Preparatul Reglalg poate fi utilizat ca stimulator de creștere a plantelor în timpul germinării semințelor și dezvoltării răsadurilor în stadiile incipiente ale ontogenezei în condiții de temperaturi ridicate.

Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului Programului de Stat 20.80009.7007.07 „Determinarea parametrilor ce caracterizează rezistența plantelor cu nivel diferit de organizare la acțiunea temperaturilor extreme în scopul diminuării efectelor schimbărilor climatice”, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare.

Bibliografie

1. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review Ann. Bot., 2003, vol. 91, P.179–194. Doi.org/10.1093/aob/mcf118.
2. Cauș M., Călugăru-Spătaru T., Dascaliuc A. Influența reglatorului natural de creștere Reglalg asupra capacității calusului de *Rhodiola rosea* L. de a acumula substanțele ce influențează potențialul oxido-reductiv al celulelor. In: Buletinul AȘM. Științele vieții, 2016. No 2 (329). P. 40-48. http://bsl.asm.md/article/id/47017.
3. Cauș M., Dascaliuc A. Influența biostimulatorului Reglalg asupra reacției plantulelor de castravete (*Cucumis sativus* L.*)* la șocul termic. In: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științele vieții. 2019, nr. 2 (338). P. 85-95. http://bsl.asm.md/article/id/87221.
4. Caus M., Dascaliuc A., Borozan P. Influence of heat shock and Reglalg on the mobilization of seed reserves for the germination and growth of the plantlets of the maize hybrid P. 427. In: Proceedings,

Inter. Sci. Conf. «Agrophysical Institute: 90 Years in The Service of Arable Farming and Crop Production» Agrophysical Research Institute, St. Petersburg, Russia, April 14–15, 2022, p. 218 – 230. https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/p-218-223_0.pdf.

5. Commuri P., Jones R.J. High temperatures during endosperm cell division in maize. In: Crop Sci., 2001, 41, 1122–1130. Doi: 10.2135/cropsci2001.4141122x.
6. El-Sappah E. H., Rather S. A., Wani S. H., Elrys A. S., Bilal M., Huang Q., et al. Heat stress- mediated constraints in maize (*Zea mays*) production: Challenges and solutions. In: Front. Plant Sci, 2022, 13, 879366. Doi: 10.3389/fpls.2022.879366.
7. Hasanuzzaman M., Borhannuddin Bhuyan M. H. M., Taufika Islam Anee et al. Regulation of Ascorbate-Glutathione Pathway in Mitigating Oxidative Damage in Plants under Abiotic Stress. In: Antioxidants, 2019, 8, 384. Doi:10.3390/antiox8090384.
8. Hussain H.A., Men S., Hussain S., Chen Y. et al. Interactive effects of drought and heat stresses on morpho-physiological attributes, yield, nutrient uptake and oxidative status in maize hybrids. In: Sci. Rep. 2019, 9, 3890. Doi: 10.1038/s41598-019-40362-7.
9. Li Z., Howell S. H. Heat stress responses and thermotolerance in maize. In: Int. J. Mol. Sci., 2021, 22, 948. Doi: 10.3390/ijms22020948.
10. Raza A., Razzaq A., Mehmood S.S. et al. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. In: Plants 2019, 8, 34. Doi: 10.3390/plants8020034.
11. Tas, T. Physiological and biochemical responses of hybrid maize (*Zea mays* L.) varieties grown under heat stress conditions. In: Peer J., 2022, 21, 10: e14141. Doi: 10.7717/peerj.14141.
12. Waqas M.A., Wang X., Zafar S.A. et al. Thermal Stresses in Maize: Effects and Management Strategies. In: Plants 2021, 10, 293. Doi:10.3390/plants10020293.