

УДК 581.1

**ВМІСТ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ КОМПОНЕНТІВ
АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ПРОРОСТКАХ КУКУРУДЗИ І
ПШЕНИЦІ ЗА ДІЇ САЛІЦИЛАТУ Й ІНФІКУВАННЯ *FUSARIUM*
GRAMINEARUM SCHWABE**

О.М. ЛУЧКІВ, М.С. КОБИЛЕЦЬКА, О.І. ТЕРЕК

Львівський національний університет імені Івана Франка
79005 Львів, вул. Грушевського, 4
e-mail: oljarajda@rambler.ru

Досліджували вміст низькомолекулярних компонентів антиоксидантної системи в органах проростків кукурудзи і пшениці за дії саліцилової кислоти та фітопатогену роду *Fusarium* Link. Виявлено, що в разі замочування насіння в регуляторі росту перед інфікуванням в органах проростків *Zea mays* L. і *Triticum aestivum* L. змінюється вміст аскорбінової кислоти та відновленого глутатіону.

Ключові слова: *Zea mays* L., *Triticum aestivum* L., *Fusarium graminearum* Schwabe, саліцилова кислота, аскорбінова кислота, відновлений глутатіон.

В останні десятиліття фузаріоз колоса вважають найнебезпечнішою хворобою стратегічно важливих зернових культур у світовому масштабі, основним збудником якої є *Fusarium graminearum*. Ураження патогеном спричинює зниження урожайності до 50 % та якості зерна, накопичення мікотоксинів, через отруйність і канцерогенність яких зерно стає непридатним для продовольчих і фуражних потреб [6].

Хімічні засоби захисту рослин хоча й ефективні, проте призводять до забруднення довкілля, накопичення в рослинах небезпечних для здоров'я людини і тварин хімічних речовин, порушення екологічної рівноваги [13]. Тому ведеться пошук альтернативних, екологічно безпечних засобів захисту, дія яких ґрунтується на підвищенні природної стійкості рослин до хвороб.

До таких сполук належить регулятор росту — саліцилова кислота (СК). Її вплив на підвищення стійкості рослин до стресорів пов'язують насамперед зі здатністю індукувати утворення активних форм кисню (АФК) [7, 9, 10, 15]. Важливу роль у нейтралізації наслідків оксидного стресу відіграє антиоксидантна система. Крім ферментів-антиоксидантів окисненню життєво важливих біомолекул рослинної клітини запобігають низькомолекулярні антиоксиданти, зокрема аскорбінова кислота (АК), глутатіон, каротиноїди тощо [2, 8, 18].

Незважаючи на численні наукові публікації, присвячені дослідженню функцій СК в рослинному організмі, експериментальних даних щодо її впливу на вміст низькомолекулярних компонентів антиоксидантної системи, особливо за дії стресора біотичної природи, вкрай мало.

Метою нашої роботи було вивчення особливостей впливу екзогенної саліцилової кислоти на вміст аскорбінової кислоти та відновленого

глутатіону в органах проростків кукурудзи і пшениці в разі їх інфікування *Fusarium graminearum*.

Методика

Досліджували проростки кукурудзи (*Zea mays* L.) сорту Закарпатська жовта зубовидна та пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Крижинка, які є нестійкими до дії фітопатогену.

Насіння кукурудзи й пшениці стерилізували у 2 %-му розчині перманганату калію протягом 10 хв і промивали дистильованою водою. Частина насіння замочували в розчині СК концентрацією 50 мкмоль/л (підбрано з літературних джерел та на підставі власних досліджень), іншу частину — в дистильованій воді протягом 3 год. Після цього частину насіння переносили в чашки Петрі на середовище, яке містило $1 \cdot 10^5$ конідій/мл патогену *Fusarium graminearum*, іншу частину — в чашки Петрі на фільтрувальний папір, змочений дистильованою водою.

Насіння пророщували у термостаті за температури 24 °С протягом 3 діб. Далі проростки переносили на дистильовану воду. Контролем слугували проростки, насіння яких замочували в дистильованій воді й не інфікували патогеном. Вміст відновленого глутатіону визначали за методом Лея і Касіди (за реакцією з реактивом Елмана) [16], вміст АК — за реакцією з розчином дихлорфеноліндофенолу [12].

Досліди проводили у триразовій повторності. В кожному варіанті досліду було три біологічні повторності, а в них — по три аналітичні. Отримані результати оброблено статистично за допомогою програмного пакета Microsoft Excel із визначенням середньоарифметичного, стандартної похибки, проведенням дисперсійного аналізу. Вірогідність різниці між варіантами оцінено за критерієм Стьюдента [5], різницю вважали вірогідною за $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення

У табл. 1 і 2 наведено результати дослідження вмісту АК в органах проростків кукурудзи й пшениці, насіння яких замочували в СК, інфікува-

ТАБЛИЦЯ 1. Вміст аскорбінової кислоти в органах 4-добових проростків *Zea mays* L. за дії саліцилової кислоти і фітопатогену, мг/г сирої речовини

Орган проростка	Контроль	СК/% контролю	ФП/% контролю	СК+ФП/% контролю
Корені	21,8±0,4	19,2±0,2*/88	22,7±0,6/104	25,5±0,8*/117
Пагони	32,6±0,6	39,7±0,3*/123	54±0,5*/166	43,7±0,2*/134

Примітка. *Тут і в табл. 2: різниця між контрольним і дослідними варіантами вірогідна за $p < 0,05$.

ТАБЛИЦЯ 2. Вміст аскорбінової кислоти в органах 4-добових проростків *Triticum aestivum* L. за дії саліцилової кислоти і фітопатогену, мг/г сирої речовини

Орган проростка	Контроль	СК/% контролю	ФП/% контролю	СК+ФП/% контролю
Корені	89,3±1,2	95,3±1,3*/107	77,8±1,2*/87	169±2,3*/189
Пагони	79,4±1,5	78,6±1,9/99	97,2±1,2*/122	74±3,5/94

ли фітопатогеном (ФП) і піддавали сумісному впливу регулятора росту та *Fusarium graminearum*.

Встановлено, що за дії СК у коренях проростків кукурудзи вміст АК знижувався, тоді як у пагонах цей показник значно підвищувався. Особливо високий вміст антиоксиданту виявлено у пагонах проростків цього виду в разі інфікування ФП. За впливу СК на інфіковані фузаріозом проростки кукурудзи вміст АК зростав як у коренях, так і в пагонах. У проростках пшениці СК дещо підвищувала вміст АК в коренях. За ураження фузаріозом у коренях проростків вміст АК зменшувався, за сумісного впливу *Fusarium graminearum* і регулятора росту — істотно збільшувався. У пагонах проростків пшениці ці зміни були протилежними: вміст АК за ураження ФП зростав і практично не змінювався за сумісного впливу СК та інфікування.

Причиною різної реакції проростків пшениці й кукурудзи на дію СК і фузаріозної інфекції, очевидно, є видові особливості рослин. Одним із проявів активного імунітету рослин є нормальне або підвищене утворення в них АК. У відповідь на ураження рослин фітопатогенами відбувається посилений біосинтез антиоксиданту. Так, у листках виноградної лози, сприйнятливих до антракнозу, виявлено підвищений вміст АК [14]. Накопичення цього вітаміну позитивно корелює також з інтенсивністю росту й розвитку рослин [1]. Відомо, що пагони і листки є основним місцем синтезу АК. Цим можна пояснити значне накопичення цієї речовини у пагонах проростків кукурудзи за дії СК та фузаріозу, а також у коренях проростків пшениці за дії СК й сумісного впливу інфекції та регулятора росту. Оскільки ці чинники індукують збільшення кількості АФК у тканинах рослин, зрозумілим є зростання вмісту АК, яка виконує антиоксидантну функцію. Водночас зменшення кількості АК в коренях проростків кукурудзи за впливу СК і в коренях проростків пшениці за інфікування ФП може бути спричинене її активним використанням у реакціях відновлення. Тому позитивним є збільшення вмісту антиоксиданту в коренях проростків пшениці за сумісного впливу СК й фузаріозу, оскільки вміст АК характеризує резервні властивості антиоксидантної системи [4]. Важливе значення у формуванні реакції проростків на дію СК та фузаріозної інфекції за участю АК має також перерозподіл цієї сполуки між коренями й пагонами, оскільки зазвичай збільшення кількості антиоксиданту в одних органах супроводжувалось зниженням або відсутністю змін в інших. Очевидно, антиоксидант накопичувався в місцях найінтенсивнішого перебігу вільнорадикальних процесів.

Результати дослідження вмісту відновленого глутатіону в проростках кукурудзи й пшениці за фузаріозної інфекції та дії СК наведено на рис. 1, 2. Вміст трипептиду збільшувався у коренях і пагонах проростків кукурудзи, насіння яких було оброблено СК, й особливо у пагонах за дії патогену. Щодо сумісного впливу СК і фузаріозу, то вірогідне підвищення вмісту глутатіону виявлено лише в коренях проростків цього виду. У проростках пшениці за дії СК істотні зміни вмісту відновленого глутатіону не спостерігались, тоді як ФП спричинював значне зростання концентрації трипептиду як у коренях, так і в пагонах проростків. Вміст глутатіону збільшувався також за сумісного впливу СК та інфікування патогеном, особливо в пагонах проростків цього виду.

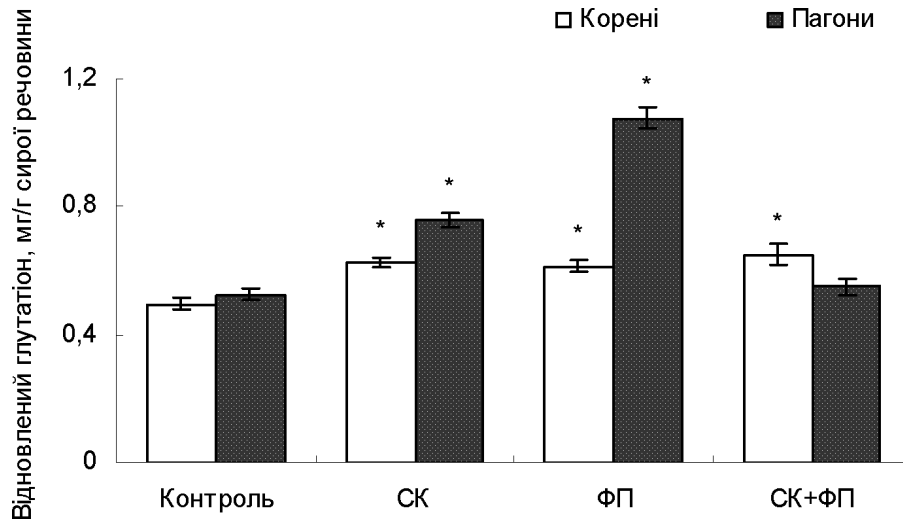


Рис. 1. Вплив саліцилової кислоти і фітопатогену на вміст відновленого глутатіону (мг/г сирої речовини) в органах 4-добових проростків *Zea mays L.*

*Тут і на рис. 2: різниця між контрольним і дослідними варіантами вірогідна за $p < 0,05$

Пул відновленого глутатіону визначається як активністю процесів його біосинтезу, відновленням окисненої форми, так і утилізації. Проте очевидно, що зростання вмісту трипептиду, який виконує низку важливих регуляторних функцій у рослинних організмах, спричинене активуванням його синтезу у відповідь на інфікування фузаріозом. Така реакція спостерігалась у проростків обох досліджуваних видів. Слід зазначити, що в разі ураження патогеном у пагонах проростків кукурудзи різко зростає вміст як відновленого глутатіону, так і АК. У більшості варіантів під впливом СК й фузаріозу рівень трипептиду в тканинах підвищувався, лише у проростків пшениці за дії регулятора росту й сумісного впливу СК і ФП в коренях кукурудзи вірогідної різниці щодо

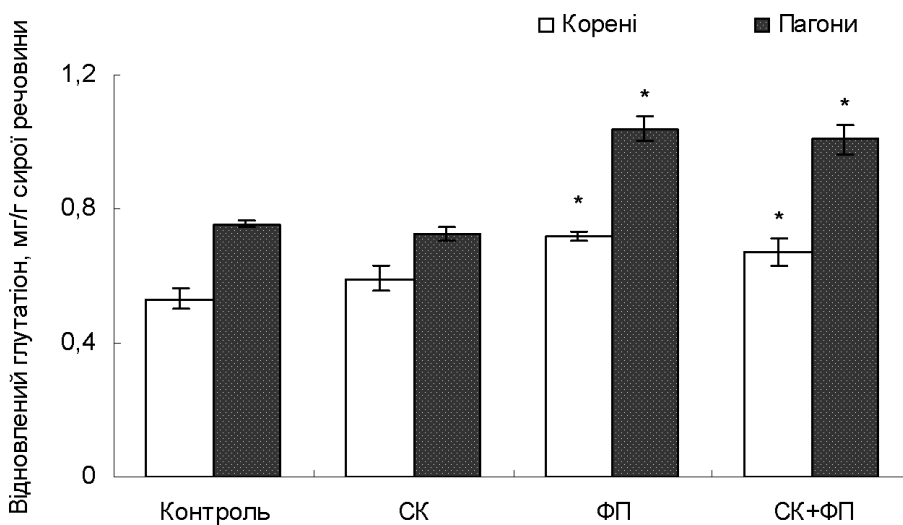


Рис. 2. Вплив саліцилової кислоти і фітопатогену на вміст відновленого глутатіону (мг/г сирої речовини) в органах 4-добових проростків *Triticum aestivum L.*

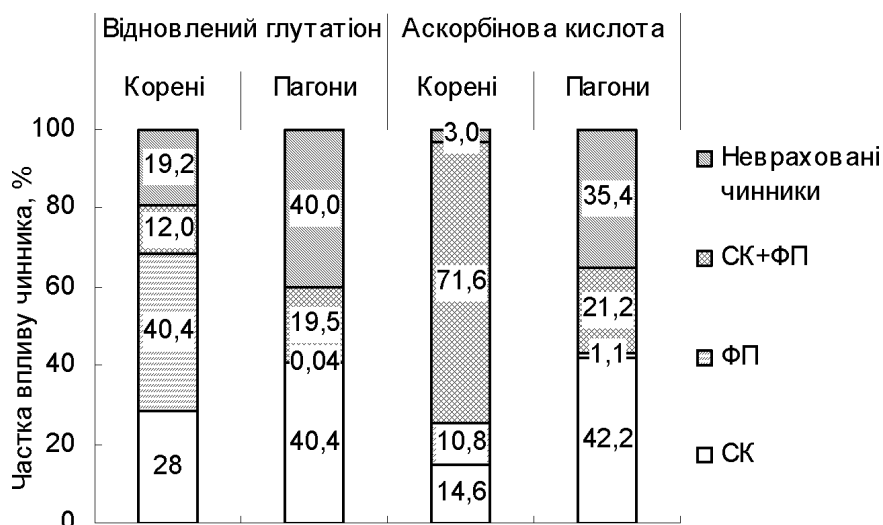


Рис. 3. Відносні частки впливу (%) саліцилової кислоти і фітопатогену на вміст відновленого глутатіону, аскорбінової кислоти в органах 4-добових проростків *Zea mays* L.

контролю не виявлено. На нашу думку, вміст відновленого глутатіону, ймовірно, збільшується у відповідь на підвищення активності окиснювальних процесів, а відновлений глутатіон використовується для знешкодження пероксиду водню, вміст якого зростає в органах досліджуваних проростків за дії СК, патогену та їх сумісного впливу [3]. Показано, що вміст відновленого глутатіону збільшується в результаті посилення генерування АФК, завдяки чому рослини можуть адаптуватись до дії несприятливих чинників довкілля [19]. Підвищення вмісту відновленого глутатіону також може бути пов'язане з активацією глутатіонредуктази, оскільки вона забезпечує функціонування циклу перетворення окисненої форми глутатіону на відновлену. Причиною збільшення вмісту цього метаболіту може бути також зростання його пулу в клітинах за участю глутатіонсинтази [17]. Подібні зміни вмісту відновленої форми глутатіону, а саме підвищення його концентрації, відмічено в органах проростків ячменю за дії СК та інфікування фузаріозною інфекцією [11].

Найімовірнішою причиною відсутності вірогідних змін вмісту глутатіону в проростках пшениці за впливу СК, СК і ФП в коренях кукурудзи є зростання швидкості його утилізації, а не відсутність змін інтенсивності біосинтезу, оскільки в попередніх дослідженнях було виявлено збільшення активності окиснювальних процесів за зазначених умов [3].

Для оцінювання відносних часток впливу саліцилової кислоти й фітопатогену роду *Fusarium graminearum* на вміст низькомолекулярних компонентів антиоксидантної системи в органах проростків кукурудзи і пшениці та їх внеску в загальну мінливість показника (у межах 100 %) ми скористались дисперсійним аналізом, результати якого ілюструють рис. 3, 4.

Проаналізувавши відносні частки впливу СК на вміст низькомолекулярних компонентів антиоксидантної системи в коренях і пагонах проростків кукурудзи, слід зазначити, що цей регулятор росту значно впливає на вміст як АК, так і відновленого глутатіону в органах проростків (див. рис. 3).

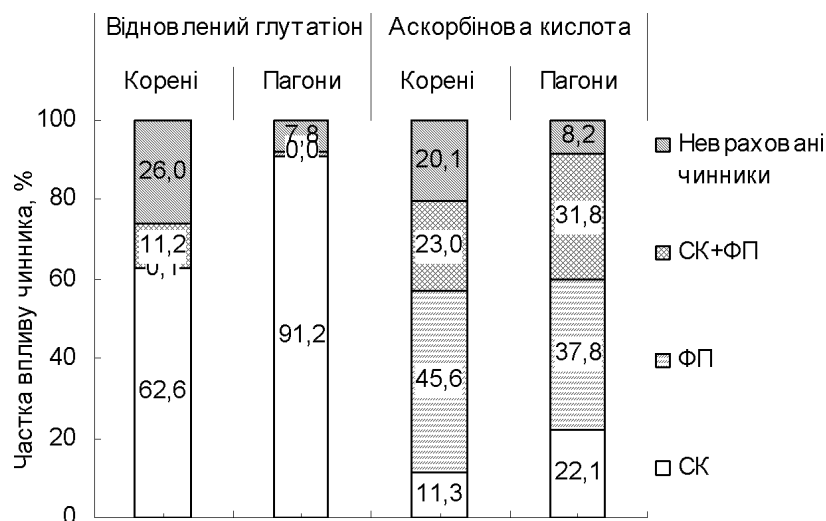


Рис. 4. Відносні частки впливу (%) саліцилової кислоти і фітопатогену на вміст відновленого глутатіону, аскорбінової кислоти в органах 4-добових проростків *Triticum aestivum* L.

Встановлено значну частку впливу фітопатогену на вміст відновленого глутатіону (40,4 %) у пагонах проростків. Відносна частка впливу сумісної дії саліцилату й фітопатогену на вміст аскорбінової кислоти в коренях проростків *Zea mays* L. становить 71,6 %, а частка впливу неврахованих чинників — лише 3 %.

Згідно з результатами дисперсійного аналізу щодо впливу саліцилату і ФП на вміст відновленого глутатіону й АК в органах проростків пшениці (див. рис. 4), відносні частки впливу регулятора росту на вміст відновленого глутатіону в коренях і пагонах проростків становлять відповідно 62,6 і 91,2 %, на вміст АК у коренях і пагонах проростків *Triticum aestivum* L. — 11,3 і 22,1 %.

Отже, попередня обробка насіння кукурудзи і пшениці регулятором росту СК спричинює зміни вмісту АК й відновленого глутатіону в органах проростків *Zea mays* L., *Triticum aestivum* L., що, ймовірно, забезпечує підтримання стабільного рівня АФК у клітині за умов інфікування проростків *Fusarium graminearum*. Різноспрямованість ефектів СК та фузаріозної інфекції у проростках кукурудзи й пшениці вказує на видову специфічність регуляції метаболічних циклів АК і глутатіону різних видів рослин.

1. Белгазі В.Й. Сортові особливості динаміки аскорбінової кислоти і глутатіону в органах винограду // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біологія. — 2004. — № 11. — С. 66—68.
2. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журн. — 2000. — 6, № 12. — С. 13—19.
3. Гарайда О., Кобилецька М., Терек О. Активність супероксиддисмутази та вміст пероксиду водню у проростках за дії саліцилової кислоти і фітопатогену // Біол. студії (Studia Biol.). — 2010. — 4, № 3. — С. 63—70.
4. Гришко В.М., Демура В.М. Динаміка вмісту метаболітів аскорбінової кислоти в проростках кукурудзи за сумісної дії кадмію і нікелю // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — 41, № 1. — С. 75—83.
5. Гумецький Р.Я., Паляниця Б.М., Чабан М.Є. Математичні методи в біології. Теоретичні відомості, програмований практикум, комп'ютерні тести: Навч. посібник. — Львів: Вид. центр Львів. ун-ту, 2004. — 112 с.
6. Кислих Т.М., Райчук Л.В. Фузаріоз колоса // Агронам. — 2005. — № 2. — С. 10—12.

7. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.Е. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. — Киев: Основа, 2010. — 352 с.
8. Колупаев Ю.Е. Возможна роль супероксиддисмутази у саліцилатіндукованому нагромадженні пероксидів у колеоптилях *Triticum aestivum* L. // Укр. ботан. журн. — 2007. — **64**, № 2. — С. 270—277.
9. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Влияние ароматических и дикарбоновых алифатических кислот на теплоустойчивость семян огурца: возможная связь эффектов с метаболизмом пероксида водорода // Агрехимия. — 2012. — № 7. — С. 32—38.
10. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Швиденко Н.В., Карпец Ю.В. Индукция теплоустойчивости колеоптилей пшеницы салициловой и янтарной кислотами: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Прикл. биохимия и микробиология. — 2012. — **48**, № 5. — С. 550—556.
11. Молодченкова О., Адамовська В., Цісельська Л. та ін. Адаптаційні біохімічні реакції злакових культур при дії абиотичних факторів // III Міжнар. конф. «Онтогенез рослин у природному та трансформованому середовищі. Фізіолого-біохімічні та екологічні аспекти»: Тези доп., 4—6 жовтня 2007. — Львів: Сполом, 2007. — С. 167.
12. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 200 с.
13. Поляковський С., Кравчук Ж., Дмитрієв О. Механізми дії індукторів стійкості у рослин на прикладі взаємодії в системі *Botrytis cinerea* × *Allium cepa* // III Міжнар. конф. «Онтогенез рослин у природному та трансформованому середовищі. Фізіолого-біохімічні та екологічні аспекти»: Тези доп., 4—6 жовтня 2007. — Львів: Сполом, 2007. — С. 176.
14. Чупахина Г.Н. Система аскорбинової кислоти растений. — Калининград, 1997. — 120 с.
15. Hernandez J., Rubio M., Olmos E. et al. Oxidative stress induced by long-term plum pox virus infection in peach (*Prunus persica*) // *Physiol. Plant.* — 2004. — **122**. — P. 486—495.
16. Lay M., Casida J. Dichloroacetamide antidotes enhance thiocarbamate sulfoxide detoxification by elevating corn root glutathione content and glutathione-S-transferase activity // *Pesticide Biochem. Physiol.* — 1976. — **18**, N 6. — P. 442—456.
17. Noctor G., Arisi A., Jouanin L. Glutathione: Biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance in transformed plants // *J. Exp. Bot.* — 1998. — **49**. — P. 623—647.
18. Potters G., Gara L., Asard H., Horemans N. Ascorbate and glutathione: guardians of the cell cycle, partners in crime? // *Plant Physiol. Biochem.* — 2002. — **40**. — P. 537—548.
19. Schneider S., Bergmann L. Regulation of glutathione synthesis in suspension cultures of parsley and tobacco // *Bot. Acta.* — 1995. — **108**. — P. 34—40.

Отримано 04.12.2012

СОДЕРЖАНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ПРОРОСТКАХ КУКУРУЗЫ И ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ САЛИЦИЛАТА И ИНФИЦИРОВАНИЯ *FUSARIUM GRAMINEARUM* SCHWABE

О.М. Лучкив, М.С. Кобылецкая, О.И. Терек

Львовский национальный университет имени Ивана Франко

Исследовали содержание низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы в органах проростков кукурузы и пшеницы при действии салициловой кислоты и фитопатогена рода *Fusarium* Link. Обнаружено, что при замачивании семян в регуляторе роста перед инфицированием в органах проростков *Zea mays* L. и *Triticum aestivum* L. изменяется содержание аскорбиновой кислоты и восстановленного глутатиона.

THE CONTENTS OF LOW MOLECULAR WEIGHT COMPONENTS OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN CORN AND WHEAT SEEDLINGS UNDER THE ACTION OF SALICYLATE AND *FUSARIUM GRAMINEARUM* SCHWABE INOCULATION

O.M. Luchkiv, M.S. Kobyletska, O.I. Terek

Ivan Franko Lviv National University
4 Hrushevskyy St., Lviv, 79005, Ukraine

The influence of salicylic acid and phytopathogen genus *Fusarium* Link. on the contents of low molecular weight components of the antioxidant system in organs of maize and wheat seedlings was investigated. It was found that treatment of seeds by growth regulator prior to inoculation changed the ascorbic acid and reduced glutathione content in organs of *Zea mays* L. and *Triticum aestivum* L. seedlings.

Key words: *Zea mays* L., *Triticum aestivum* L., *Fusarium graminearum* Schwabe, salicylic acid, ascorbic acid, reduced glutathione.