

РОЛЬ ГЛУТАТІОН-ЗАЛЕЖНОЇ СИСТЕМИ В АДАПТАЦІЇ СОРТІВ РОСЛИН *LOLIUM PERENNE* L. ВІТЧИЗНЯНОЇ СЕЛЕКЦІЇ

О.Ю. Лещенко, аспірантка*

Досліджено вміст відновленого глутатіону та активність антиоксидантних ферментів – глутатіон-редуктази (GR) та глутатіон-S-трансферази (GST) у вегетативних органах рослин 5 сортів вітчизняної селекції *Lolium perenne* L. – Андріана-80, Лета, Оріон, Святошинський та Литвинівський-1. Виявлено сортову специфічність рослин *Lolium perenne* L., що обумовлена варіюванням рівня активності елементів глутатіон-залежної системи. Експериментальним шляхом встановлено, що рослини *L. perenne* L. сортів Андріана-80 та Лета є найперспективнішими для озеленення урболандшафтів, відрізняються високим вмістом відновленого глутатіону та значною активністю GR і GST.

***Lolium perenne* L., глутатіон, глутатіон-залежна система, глутатіон-редуктаза, сорт.**

Газонні покриття є невід'ємним елементом озеленення сучасних урбофітоценозів. Відсутність системи автоматичного зрошення та засоленість ґрунту – основні проблеми сформованих дернових покриттів населених місць України. Від надлишкового засолення ґрунтів потерпає 25 % поверхні земної кулі (Кузнецов, 2006), що має безпосередній негативний вплив на ріст і розвиток рослин. Стійкість рослин до несприятливих чинників навколишнього середовища, у першу чергу, визначається їх фізіолого-біологічними особливостями. Застосування високоадаптивних до стресових умов рослин є однією із головних вимог при підборі садивного матеріалу для садово-паркових об'єктів. Пажитниця багаторічна (*L. perenne* L.) є одним із основних компонентів газонних культурфітоценозів різного призначення та має велике практичне значення у садово-парковому будівництві. Аналіз стійкості рослин *L. perenne* L. до несприятливих чинників зовнішнього середовища може базуватися на оцінці ефективності глутатіон-залежної системи.

Глутатіон (GSH) – біологічно активна речовина, трипептид (L-гама-глутаміл-L-цистеїніл-гліцин), є одним з універсальних регуляторів біохімічного і фізіологічного гомеостазу будь-якого організму. Встановлено, що тіолова (сульфгідрильна) група є головною функціональною частиною трипептиду та легко піддається як ферментативному, так і неферментативному окисленню, в результаті чого утворюється дисульфідна (окислена) форма глутатіону (GSSG) [19]. Відновлений глутатіон (GSH) – низькомолекулярний тіол, біосинтез і катаболізм якого відбувається шляхом глутамільного циклу. Реакція окислення відновленого глутатіону каталізується ферментами з різною специфічністю до акцепторів водню. Зворотний процес – відновлення окисленого глутатіону – каталізує глутатіонредуктаза (GR) [5, 8, 13, 19].

* Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор О.В. Колесніченко

Глутатіон є важливим компонентом низькомолекулярної антиоксидантної системи, його відновлена форма складається із залишків глютамінової кислоти, глікоколу та цистеїну. Дослідження трансформації системи глутатіону у рослинному організмі є досить актуальним питанням в галузі озеленення, оскільки він є показником стійкості. Функціональна роль глутатіону різноманітна, адже він міститься майже в усіх тканинах рослин і бере участь у багатьох фізіологічних і біохімічних процесах: захищає організм від активних кисневих сполук, відновлює та ізомеризує дисульфідні зв'язки, впливає на активність ферментів, біосинтез білка й проліферацію нуклеїнових кислот, підтримує функції мембран, є резервом цистеїну, підвищує резистентність клітин рослин до дії хімічних і фізичних факторів зовнішнього середовища, зумовлює стійкість до катіонів важких металів (Долгова, 2009).

Встановлено, що редокс-система біотила глутатіон викликає достовірні зміни активності синтезу білка в мітохондріях. Спостерігається активація трансляції білка у присутності глутатіону в активній формі, і навпаки – гальмування цього процесу, якщо глутатіон знаходиться у відновленій формі (Субота, 2003). Таким чином, визначено, що в редокс-контролі синтезу білка у мітохондріях злаків, бере участь тіол-дисульфідний обмін, який включає редокс-систему глутатіону.

Глутатіон є попередником фітохелатинів – низькомолекулярних пептидів, що містять велику кількість SH-груп (Grill et al, 1985), що забезпечує стійкість рослин за рахунок активації механізму детоксикації металу та підвищення вмісту глутатіону та синтез ФХ. Одним із найважливіших механізмів стійкості рослин до впливу металів є детоксикація іонів тяжких металів у клітині шляхом зв'язування їх з SH-групами деяких низькомолекулярних пептидів і білків (Hall, 2002).

Дія розчину кадмію у різних концентраціях (0-100 мг/дм³) на проростання ячменю призводила до збільшення загальної кількості з'єднань, які містять SH-групи. Потрібно зазначити, що було виявлено підвищення (у порівнянні з контролем) загального пула глутатіону (GSH+GSS), при чому спостерігалася тенденція різкого збільшення GSH, в порівнянні GSS.

Встановлено, що важливу роль в адаптації газонних трав до засолення відіграє фермент ГПО, що супроводжується більш інтенсивним ростом коренів і пагонів рослин основних газонуотворюючих трав [6].

Об'єктом наших досліджень слугували рослини *L. perenne* L. 5 сортів вітчизняної селекції – Андріана-80, Лета, Оріон, Святошинський та Литвинівський-1, що були відібрані з території розсаднику Київської дослідної станції ННЦ «ІЗ» НААН України у 2013 р.

Мета досліджень – оцінка вмісту глутатіону у вегетативних органах рослин 5 сортів вітчизняної селекції *L. perenne* L. та виявлення перспективних сортів для озеленення населених місць.

Матеріали та методика досліджень. Вміст глутатіону відновленого визначали за методикою E. Beutler et al. (1963) у модифікації В. М. Гришка та Д. В. Сищикова [1]. В основі методики лежить реакція тіолосульфідного обміну, під час якої вивільнюється аніон 2-нітро-5-тіобензоату.

Для визначення відновленої форми глутатіону використовували 20 % гомогенат рослинних тканин, виготовлений на 0,3 М калій-фосфатному буфері з рН 7,5 (4,26 г K₂HPO₄ розчинили у 100 мл H₂O). Отриманий гомогенат

центрифугували протягом 20 хв при 6 000 об/хв. До 2 мл супернатанту додавали 3 мл осаджувального реактиву (у 100 мл якого міститься 1,67 г HPO_3 , 0,2 г трилону Б, 30 г NaCl) та проводили повторне центрифугування протягом 10 хв при 6 000 об/хв. Потім у кювету вносили 2 мл 0,3 М калій-фосфатного буфера, 0,05 мл 1 мМ розчину реактиву Еллмана, 2 мл отриманого супернатанту та проводили вимірювання оптичної густини при 412 нм на фотоелектроколориметрі КФК-3.

Результати досліджень. Нами встановлено наявність сортової специфічності вітчизняних сортів *L. perenne* L. як у здатності їх накопичувати відновлений глутатіон, так і рівнях активності глутатіон-залежних ферментів в органах рослин.

Відомо, що відновлений глутатіон у рослинних клітинах бере активну участь в окисно-відновних процесах, що забезпечує виконання багатьох функцій: захист клітин від активних форм кисню [7], відновлення дисульфідних зв'язків, підтримка функцій мембран, хелатування іонів важких металів [14] тощо. У такий спосіб відновлений глутатіон підтримує окисно-відновну рівновагу рослинних клітин та сприяє підвищенню стійкості рослин до впливу абіотичних і біотичних чинників [5, 18].

Видову специфічність вмісту та сезонної динаміки накопичення відновленого глутатіону встановлено при дослідженні вмісту GSH у листках рослин родового комплексу *Amelanchier* Med. [3]. При цьому діапазон коливань пулу відновленого глутатіону у листках рослин був досить значним: від 0,071 до 0,282 мг/г маси.

Установлено суттєву різницю рівнів накопичення відновленого глутатіону та його метаболізму у рослин очерету (*Phragmites communis* Trin.) з екотипів, адаптованих до різних едафічних та кліматичних умов [12].

За сумарним вмістом відновленого глутатіону у листках і коренях (рис. 1) досліджені рослини можна поділити на три групи: з максимальним вмістом (Андріана-80, Литвинівський-1), середнім (Лета, Святошинський) та мінімальним вмістом (Оріон).

Установлено суттєву різницю рівнів накопичення відновленого глутатіону та його метаболізму у рослин очерету (*Phragmites communis* Trin.) з екотипів, адаптованих до різних едафічних та кліматичних умов [12].

Показано широкий діапазон коливань вмісту відновленого глутатіону (від 19,2 до 46,6 мМоль/г маси) у листках чагарникових рослин роду *Ribes* L. з регіонів різного географічного походження [2].

Таким чином, виявлена нами у дослідженні різниця вмісту відновленого глутатіону у листках і коренях трав'янистих рослин різних генотипів узгоджується з літературними даними.

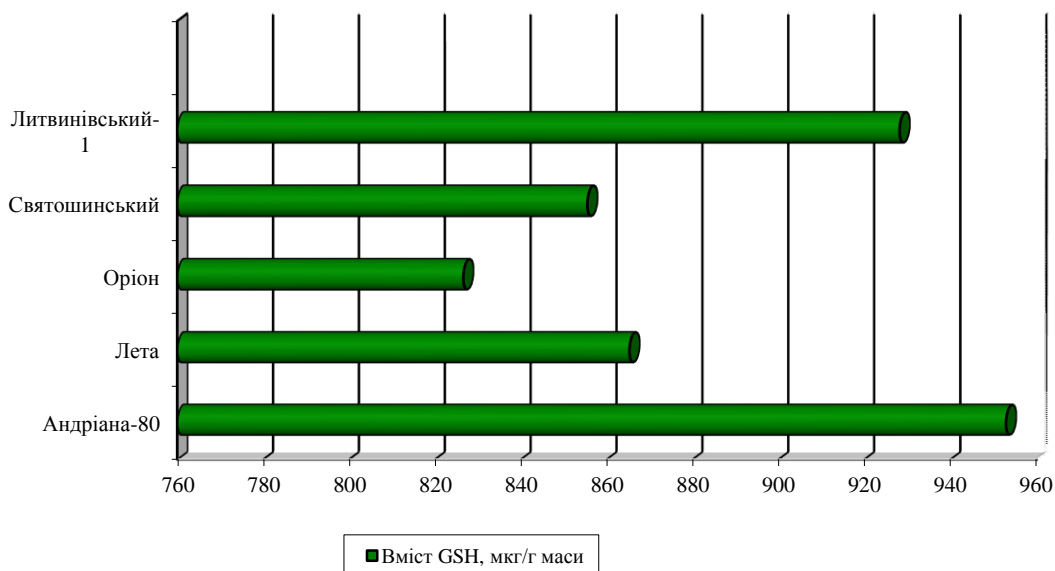


Рис. 1. Сумарні показники вмісту GSH (мкг/г сирової маси) у листках та коренях рослин *L. perenne L.*

За рівними активності глутатіон-редуктази досліджені сорти відрізнялись несуттєво (рис. 2), проте у листках та коренях Оріону і Литвинівського-1 вона була нижчою. Ураховуючи, що функціонування ферменту забезпечує відновлення окислених молекул глутатіону, можна припустити, що за контрольних умов у клітинах вказаних рослин уповільнено цей процес. Оскільки при цьому у тих же рослин виявлено досить високий вміст відновленого глутатіону, можна припустити, що їм властивий більш інтенсивний процес біосинтезу відновленого глутатіону.

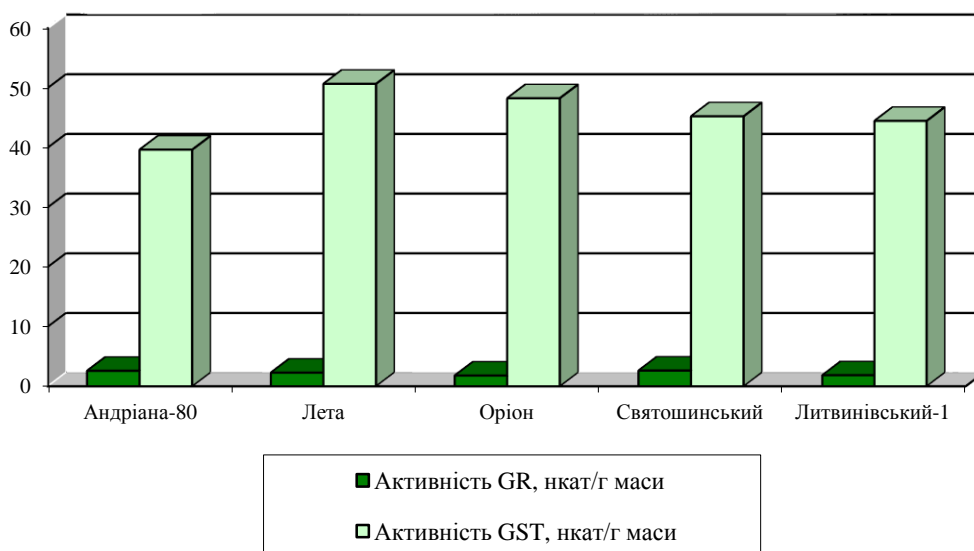


Рис. 2. Показники активності GR і GST (нкат/г сирової маси) у листках та коренях рослин *L. perenne L.*

За рівними активності глутатіон-S-трансферази (див. рис. 2) можна виділити сорти з високою ферментативною активністю (Лета, Оріон), середньою (Святошинський, Литвинівський-1) та низькою (Андріана-80).

Відомо, що функціонування GST забезпечує детоксикацію як ендогенних токсикантів, так і різноманітних екзогенних ксенобіотиків [16].

При дослідженні дії фузаріозної інфекції на рослини ячменю встановлено більш значне (у 2,2 раза) накопичення відновленого глутатіону та більш високу метаболічну активність циклу глутатіону у тих генотипів, які були стійкими до інфекції [9].

Висновки

На основі експериментальних даних встановлено, що рослини *L. perenne* L. сортів Андріана-80 та Лета є найбільш адаптованими до міських умов та їх можна рекомендувати для озеленення урболандшафтів.

Список літератури

1. Гришко В. Н. К методике определения содержания тиоловых групп (восстановленной формы глутатиона) в растениях / В. Н. Гришко, Д. В. Сыщиков // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2002. – Т. 1., № 10. – С. 190–193.
2. Динаміка вмісту відновленої форми глутатіону в асиміляційному апараті деяких видів родів *Ribes* L., *Larix* Mill. та *Crataegus* L. колекції Криворізького ботанічного саду НАН України / [Д. В. Сыщиков, В. Д. Федоровський, Н. С. Терлига, Ю. С. Юхименко] // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку / НАН України, Ін-т фізіології рослин і генетики. – К. : Логос. – 2009. – Т.2. – С. 355–360.
3. Долгова Л.Г. Вміст глутатіону відновленого як показник стійкості рослин-інтродуцентів *Amelanchier* (Rosaceae) / Л.Г. Долгова, М.В. Самойлова // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2009. – Т. 2., №17 – С. 41–45.
4. Кузнецов В. В. Физиология растений : учеб. для ВУЗов. // В. В. Кузнецов, Г.А.Дмитриева. - [2-е. изд.]. – М.: Высш. шк., 2006. – 742 с.
5. Кулинский В.И. Биологическая роль глутатиона / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко //Успехи современной биологии. – 1990. – Т. 110, № 1(4). – С. 20–23.
6. Лиштва В.В. Участь глутатіон-залежної системи газонних рослин в адаптації до засолення середовища / В. В. Лиштва, Н. О., Хромих, Ю. В. Лихолат. – Дніпропетровськ. : Дніпропетр. ун–т ім. Олесья Гончара. [Електронний ресурс]. – 2012. – Режим доступу : URL : http://www.rusnauka.com/15_NNM_2012/Biologia/4_110945.doc.htm
7. Митева Л.П. Изменение пула глутатиона и некоторых ферментов его метаболизма в листьях и корнях растений гороха, обработанных гербицидом глифосатом / Л.П. Митева, С.В. Иванов, В.С. Алексеева // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, №1. – С. 139–145.
8. Мещішен І.Ф. Глутатіон: обмін і функції / І.Ф. Мещішен, В.П. Пішак, Н.П. Григор'єва // Основи обміну речовин та енергії. – Чернівці, 2005. – С. 123–130.
9. Молодченкова О. Особливості функціонування глутатіон-залежної антиоксидантної системи в проростках ячменю за дії фузаріозної інфекції та саліцилоїлі кислоти // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2007. – № 45. – С. 195–198.
10. Субота И.Ю. Изучение релокс-контроля синтеза белка в митохондриях злаков / 03.0012 // Физиология и биохимия растений. – Иркутск, 2003. – 131 с.
11. Устойчивость растений семейства *Rosaceae* к кадмию / А. Ф. Титов, Н. М. Казнина, Н.В. Шалыго та ін. // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века / Петрозаводск : Ин–т биологии Карельского науч. центра, 2008. – С. 129–131.
12. Chen K.M. Up-regulation of glutathione metabolism and changes in redox status involved in adaptation of reed (*Phragmites communis*) ecotypes to drought-prone and saline

habitats / K.-M. Chen, H.-J. Gong, G.-C. Chen // J. Plant Physiol. – 2003. – Vol. 160. Is. 3. – P. 302-309.

13. Forman H.J. Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis / Henry Jay Forman, Hongqiao Zhang, and Alessandra Rinna // Mol. Aspects Med. – 2009. – Vol. 30. N 1–2. – P. 1–12.

14. Freeman J.L., Persans M.W., Nieman K., Albrecht C., Peer W., Pickering I.J., Salya D.E. Increased Glutathione Biosynthesis Plays a Role in Nickel Tolerance in *Thlaspi Nickel Hyperaccumulators* // Plant Cell. – 2004. – V. 16, № 8. – P. 2176-2191.

15. Grill E., Winnacker E.L., Zenk M.H. Phytochelatin: The principal heavy-metal complexing peptides of higher plants // Science. – 1985. – V. 230. – P. 674-676.

16. Gronwald J.W., Plaigance K.L. Isolation and characterization of glutathione-S-transferase isozymes from sorghum // Plant Physiology. – 1998. – V. 117. – P. 677-692.

17. Hall J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance // J. Exp. Bot. – 2002/ - V.53. – P. 1–11.

18. Noctor G., Arisi A. C. M., Jounanin L. Glutathione: biosynthesis, metabolism and relation ship to stresstolerance explored in transformed plants // J. Exp. Botany. – 1998. – V. 49, № 321. – P. 623–647.

19. Pedro Diaz Vivancos, Tonja Wolff, Jelena Markovic [et al.] A nuclear glutathione cycle within the cell cycle / Pedro Diaz Vivancos, Tonja Wolff, Jelena Markovic [et al.] // Biochem. J. – 2010. – Vol. 431. – P. 169–178.

Исследовано содержание восстановленного глутатиона и активность антиоксидантных ферментов – глутатион-редуктазы (GR) и глутатион-S-трансферазы (GST) у вегетативных органах растений 5 сортов отечественной селекции Lolium perenne L. – Андриана-80, Лета, Орион, Святошинский и Литвиновский -1. Выявлено сортовую специфичность растений L. perenne L., обусловленную варьированием уровня активности элементов глутатион-зависимой системы. Экспериментальным путем установлено, что растения L. perenne L. сортов Андриана-80 и Лета являются наиболее перспективными для озеленения урболандшафтов, отличаются высоким содержанием восстановленного глутатиона и значительной активностью GR и GST.

Lolium perenne L., глутатион , глутатион-зависимая система, глутатион-редуктаза, сорт.

Analysis the content of reduced glutathione and antioxidant enzymes – glutathione reductase (GR) and glutathione-S-transferase (GST) in the vegetative organs of plants 5 varieties of ukrainian breeding Lolium perenne L. – Adriana-80, Leta, Orion, Sviatoshynskyi and Lytvynivskyy-1. Found varietal specificity of plant L. perenne L., which is due to the variation of the level of activity glutathione-dependent elements of the system. Experimentally established that the plants of L. perenne L. varieties Andriana-80 and Leta are the most promising for planting urbolandshaftiv, have high level of glutathione and significant activity of GR and GST.

Lolium perenne L., glutathione, glutathione-dependent system, glutathione reductase, varieties.