



УДК 581.1:632.122.1

© 2007

Ю. Є. Колупаєв, Ю. В. Карпець,  
член-кореспондент НАН України Л. І. Мусатенко

### Участь активних форм кисню в індукуванні солестійкості проростків пшениці саліциловою кислотою

*The exogenous salicylic acid (SA) action on the salt resistance of wheat plantlets is studied. SA (1 μM) increased the content, of peroxide compounds proline, and soluble carbohydrates in roots and (to a lesser degree) in propagules. Thus, the salt resistance of plantlets increased. All SA effects were levelled by an antioxidant ionol (butylhydroxytoluene). A conclusion is drawn that reactive oxygen forms are the messengers in the induction of plants' defense reactions to a salt stress by SA.*

Саліцилова кислота (СК) здатна підвищувати стійкість рослин до біотичних і абіотичних стресорів [1, 2]. Є відомості, які свідчать про те, що індукування стійкості рослин до патогенів екзогенною і ендогенною СК відбувається за участю активних форм кисню (АФК) [1]. СК, пригнічуючи активність антиоксидантних ферментів (каталаза, аскорбатпероксидаза) та підвищуючи активність прооксидантних ферментів (НАДФН-оксидаза, гваяколпероксидаза), спричинює нагромадження АФК, передусім пероксиду водню —  $H_2O_2$  [3]. Показано здатність АФК індукувати сигнали, що активують експресію генів, які кодують гідролітичні ферменти, РR-білки, контролюють синтез фенольних сполук, фітоалексинів та інших речовин, причетних до розвитку системної набутої стійкості до патогенів [4]. Антиоксиданти можуть викликати пригнічення експресії РR-генів, яку індукує СК [5]. Зважаючи на дані про існування зв'язків між різними сигнальними системами рослинних клітин [3], можна припускати участь АФК в індукуванні саліцилатом захисних реакцій на абіотичні стресори.

Раніше нами було виявлено пригнічення антиоксидантом іонолом розвитку теплостійкості ізольованих сім'ядолей огірка, індукованого СК [6]. Є відомості про здатність СК підвищувати солестійкість рослин і посилювати синтез проліну в них [7]. Пролін вважається одним із потужних поліфункціональних протекторів, що синтезуються в рослинах у відповідь на сольовий, осмотичний та інші стресові чинники [8]. До осмопротекторних

і мембранопротекторних сполук належать також розчинні вуглеводи [9]. Крім того, ці речовини виявляють безпосередній захисний вплив на білкові молекули. Відомі також антиоксидантні ефекти проліну [8] та цукрів [9]. Є поодинокі дані про посилення їх нагромадження в рослинах під дією СК [10]. Проте залишається недоведеною роль АФК як посередників в індукуванні СК накопичення цих протекторних речовин.

Для з'ясування даного питання досліджували роздільний і сумісний вплив СК та відомого антиоксиданта іонолу (бутилгідрокситолуолу) на солестійкість проростків пшениці, нагромадження ними пероксидів — показник окиснювального стресу [6], вміст проліну і розчинних вуглеводів.

Етіюльовані 4-добові проростки озимої пшениці сорту Донецька 48 обробляли протягом 24–26 год 1 мкМ СК (надходження через корені) або 90 мкМ іонолом. У варіанті з комбінованою обробкою СК та іонолом антиоксидант додавали в середовище інкубації коренів за 2 год до введення СК. Контролем були проростки, що інкубувалися на воді. Концентрації досліджуваних речовин добирали на підставі результатів попередніх дослідів. Після обробки проростків СК та/або іонолом їх піддавали сольовому стресу (дія 4% NaCl протягом 5 год). До впливу стресора і після нього в коренях та пагонах визначали вміст пероксидів у перерахунку на  $H_2O_2$  [11], проліну [12], сумарний вміст розчинних вуглеводів та кількість відновних цукрів [13]. Після припинення дії NaCl проростки всіх варіантів переносили на воду і через 3–4 доби оцінювали їх виживання. Повторність дослідів 3–5-разова. На рисунках і в таблиці наведені середні величини та їх квадратичні відхилення.

При інкубації проростків пшениці на розчині СК вміст пероксидів у коренях і пагонах підвищувався (рис. 1). За впливу іонолу вміст пероксидів знижувався, а спричинюваний СК ефект їх нагромадження нівелювався як у коренях, так і в пагонах. Після 5 год дії NaCl вміст пероксидів у коренях контрольного варіанта помітно зростав, у варіанті з СК зростання було менш істотним, а у варіантах з іонолом і комбінацією СК та іонолу вміст пероксидів істотно не змінювався. У пагонах після дії NaCl спостерігалася тенденція до зниження вмісту пероксидів у контролі і значне падіння цього показника у варіанті з СК. У варіантах з іонолом і комбінацією СК та іонолу також виявлено тенденцію до зниження вмісту пероксидів (див. рис. 1). Значне зменшення вмісту пероксидів у пагонах проростків пшениці за впливу СК, імовірно, пов'язане з проявом її захисних ефектів — можливою індукцією анти-

Таблиця 1. Сумарний вміст розчинних вуглеводів і вміст відновних цукрів (мг/г сухої речовини) в коренях і пагонах проростків пшениці

Варіант досліджу	До стресу		Після дії 4%-го NaCl	
	Сумарний вміст розчинних вуглеводів	Вміст відновних цукрів	Сумарний вміст розчинних вуглеводів	Вміст відновних цукрів
Корені				
Контроль	158 ± 5	51,5 ± 1,7	186 ± 5	66,4 ± 2,1
СК (1 мкМ)	226 ± 8	83,0 ± 2,7	279 ± 9	84,5 ± 3,2
Іонол (90 мкМ)	159 ± 9	62,4 ± 1,9	225 ± 8	59,0 ± 4,9
СК (1 мкМ) + іонол (90 мкМ)	163 ± 7	69,5 ± 3,4	219 ± 8	63,2 ± 4,0
Пагони				
Контроль	416 ± 12	208 ± 7	341 ± 13	223 ± 11
СК (1 мкМ)	525 ± 22	236 ± 6	499 ± 18	363 ± 8
Іонол (90 мкМ)	428 ± 17	215 ± 7	432 ± 16	332 ± 9
СК (1 мкМ) + іонол (90 мкМ)	400 ± 19	204 ± 9	452 ± 14	320 ± 10

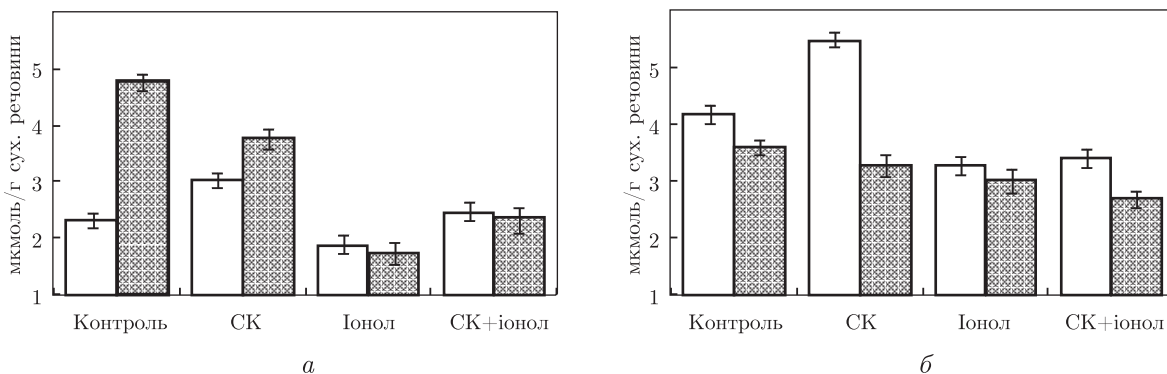


Рис. 1. Вміст пероксидів у коренях (а) і пагонах (б) проростків пшениці при роздільному і сумісному впливі СК (1 мкМ) та іонолу (90 мкМ) до (□) і після (▨) дії 4%-го NaCl

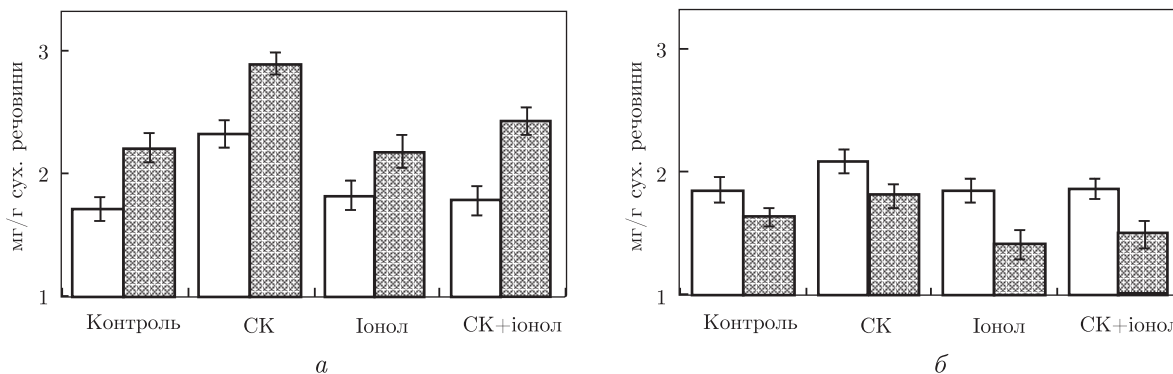


Рис. 2. Вміст проліну в коренях (а) і пагонах (б) проростків пшениці при роздільному і сумісному впливі СК (1 мкМ) та іонолу (90 мкМ) до (□) і після (▨) дії 4%-го NaCl

оксидантних систем за умов дії сольового стресу [6]. Відсутність прояву такого ефекту СК у коренях, мабуть, пояснюється надмірним стресовим навантаженням на ці органи (прямим впливом на них NaCl). Нижчий вміст пероксидів у проростках пшениці у варіантах з іонолом, напевно, можна пояснити його безпосередньою антиоксидантною дією.

Вміст проліну в коренях проростків пшениці за впливу СК підвищувався. Іонол не впливав на цей показник, але знімав ефект нагромадження проліну, спричинюваний СК (рис. 2). У пагонах виявлялася лише тенденція до незначного підвищення вмісту проліну під впливом СК. В інших дослідних варіантах вміст проліну не відрізнявся від контролю. Сольовий стрес викликав нагромадження проліну в коренях проростків усіх варіантів дослідження. Проте найбільші абсолютні значення спостерігалися у варіанті з СК. У варіантах з іонолом і комбінацією іонолу та СК вміст проліну в коренях не відрізнявся від відповідного (стресового) контролю (див. рис. 2). У пагонах після дії стресора вміст проліну незначною мірою знижувався в усіх варіантах дослідження. Найвищі абсолютні значення при цьому залишалися у варіанті з СК, хоча різниця порівняно з контролем була недостовірною.

СК викликала підвищення вмісту суми розчинних вуглеводів і відновних цукрів у коренях проростків (табл. 1). Іонол не впливав на загальний вміст цукрів у коренях, хоча й дещо підвищував вміст відновних цукрів як сам по собі, так і в комбінації з СК. Але цей ефект поступався дії однієї СК. Крім того, іонол знімав підвищення сумарного вмісту розчинних вуглеводів у коренях, спричинюване СК. У пагонах підвищення сумарного вмісту цукрів,

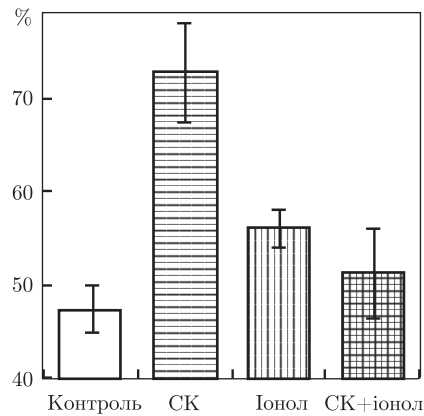


Рис. 3. Вживаність проростків пшениці (%) після 5 год дії 4%-го NaCl

а також вмісту відновних цукрів під впливом СК було менш істотним, ніж у коренях, хоча й достовірним. Іонол, а також комбінація СК та іонолу не впливали на вміст розчинних вуглеводів у пагонах за відсутності дії стресового чинника.

Після сольового стресу загальний вміст розчинних вуглеводів у коренях зростав у всіх варіантах, вміст відновних цукрів підвищувався лише в контролі. При цьому найбільші абсолютні значення сумарного вмісту розчинних вуглеводів і вмісту відновних цукрів спостерігалися у варіанті з СК. У пагонах після сольового стресу загальний вміст цукрів у контролі знижувався, а у варіантах з СК, іонолом та їх комбінацією істотно не змінювався. Вміст відновних цукрів у пагонах після дії сольового стресу в контролі істотно не змінювався, але зростав у всіх дослідних варіантах (див. табл. 1). Особливо помітним було це зростання у варіанті з СК.

Отже, екзогенна СК спричинювала у коренях і (меншою мірою) у пагонах проростків пшениці виникнення окиснювального стресу, що супроводжувалося нагромадженням пероксидів. Обробка проростків СК також призводила до нагромадження проліну та розчинних вуглеводів у коренях і (незначною мірою) у пагонах. Ці ефекти СК блокувалися антиоксидантом іонолом.

Таким чином, СК підвищувала солестійкість проростків, про що свідчить збільшення їх вживаності через 3–4 доби після короточасної дії NaCl в ушкоджуючій концентрації (рис. 3). Іонол також підвищував солестійкість проростків, однак його ефекти в умовах експерименту поступалися дії СК. При цьому антиоксидант практично повністю знімав захисний ефект СК за сольового стресу (див. рис. 3).

З отриманих результатів випливає, що індуковане СК нагромадження проліну і цукрів у коренях і пагонах належить до реакцій, причетних до підвищення солестійкості проростків пшениці. При цьому спричинюване саліцилатом нагромадження протекторних речовин, імовірно, відбувається за участю АФК. Про це свідчить зняття антиоксидантом іонолом посилення нагромадження проліну і цукрів, яке викликала обробка коренів екзогенною СК.

Обговорення механізмів індукування нагромадження низькомолекулярних протекторів у проростках пшениці під впливом СК виходить за рамки фактичного матеріалу даного повідомлення. Зауважимо лише, що значне накопичення цукрів у коренях може бути пов'язане з посиленням під дією СК гідролізу запасних полісахаридів в ендоспермі та/або відтоком розчинних вуглеводів у корені, що зазнають безпосередньої дії стресового чинника. Водночас можна припускати, що нагромадження проліну в коренях під впливом СК

швидше за все пов'язане з його синтезом [8], оскільки подібний ефект спостерігався під дією СК не лише в інтактних проростках, а й в ізольованих органах — відрізках колеоптилів пшениці [14].

Отже, отримані нами результати дозволяють стверджувати, що в індукуванні нагромадження низькомолекулярних протекторів, необхідних для розвитку солестійкості проростків, важлива роль належить АФК.

1. *Durner J., Shah J., Klessing D. F.* Salicylic acid and disease resistance in plants // *Trends Plant Sci.* – 1997. – **2**. – P. 266–274.
2. *Horvath E., Janda T., Szalai G., Paldi E.* In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance // *Plant Sci.* – 2002. – **163**. – P. 1129–1135.
3. *Дмитрієв О. П., Кравчук Ж. М.* Активні форми кисню та імунітет рослин // *Цитология и генетика.* – 2005. – № 4. – С. 64–74.
4. *Chen Z., Silva H., Klessing D. F.* Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid // *Science.* – 1993. – **262**. – P. 1883–1886.
5. *Wendehenne D., Durner J., Chen Z., Klessing D. E.* Benzothiadiazole, an inducer of plant defenses, inhibits catalases and ascorbate peroxidase // *Phytochemistry.* – 1998. – **47**. – P. 651–657.
6. *Колупаєв Ю. Є., Мусатенко Л. І., Косаківська І. В., Карпець Ю. В.* Вплив саліцилової кислоти і фітогормонів на теплостійкість сім'ядолей *Cucumis sativus* L. у зв'язку зі зрушенням прооксидантно-антиоксидантної рівноваги // *Укр. ботан. журн.* – 2006. – **63**, № 6. – С. 837–844.
7. *Sakhabutdinova A. R., Fatkhutdinova D. R., Bezrukova M. V., Shakirova F. M.* Salicylic acid presents the damaging action of stress factors on wheat plants // *Bulg. J. Plant Physiol.* – 2003. – Spec. Issue. – P. 314–319.
8. *Кузнецов Вл. В., Шевякова Н. И.* Пролін при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // *Физиология растений.* – 1999. – **46**, № 2. – С. 321–336.
9. *Колупаєв Ю. Є., Трунова Т. И.* Особенности метаболизма и защитные функции углеводов растений в условиях стрессов // *Физиология и биохимия культ. растений.* – 1992. – **24**, № 6. – С. 523–533.
10. *Feng X., Cao J., Chen Z.* Influence of salicylic acid on some physiological and biochemical indexes of the plantlets obtained from tissue culture *Zizyphus jujuba* // *Acta Bot. Boreali-occident. Sin.* – 2003. – **23**. – P. 1625–1627.
11. *Sagisaka S.* The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gebrica* // *Plant Physiol.* – 1976. – **57**. – P. 308–309.
12. *Bates L. S., Walden R. P., Tear G. D.* Rapid determination of free proline for water stress studies // *Plant and Soil.* – 1973. – **39**. – P. 205–210.
13. *Арасимович В. В.* Определение сахаров // *Методы биохимического исследования растений.* – Ленинград: Агрпромиздат, 1987. – С. 133–135.
14. *Колупаєв Ю. Є., Карпець Ю. В., Акиннина Г. Е.* Влияние салициловой кислоты и перекиси водорода на содержание пролина в колеоптилях пшеницы при тепловом и солевом стрессах // *Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія.* – 2005. – Вип. 1 (6). – С. 51–58.

Харківський національний аграрний  
університет ім. В. В. Докучаєва  
Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного  
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 20.12.2006