

УДК 631.811.98:581.52

**РОСТОВІ ПАРАМЕТРИ ТА ВМІСТ ПРОЛІНУ І ТРИПТОФАНУ  
В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦІ *TRITICUM AESTIVUM* L.  
ЗА ДІЇ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ І ЙОНІВ КАДМІЮ**

**Б. Качмар, М. Кобилецька, О. Терек**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

*e-mail: dana-kachmar@rambler.ru*

Досліджено вплив саліцилової кислоти (СК) у концентрації 0,05 ммоль на ростові параметри та вміст амінокислот – проліну і триптофану – в проростках пшениці *Triticum aestivum* L. за дії хлориду кадмію ( $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  М). Виявлено протекторний вплив досліджуваного фітогормону на рослинний організм за дії важкого металу. За обробки насіння СК стимулювався ріст проростків пшениці, зростав вміст проліну, але вміст триптофану залишався на рівні контролю у коренях і знижувався у пагонах.

*Ключові слова:* *Triticum aestivum* L., саліцилова кислота, йони кадмію, пролін, триптофан, ріст.

Проблема адаптації та стійкості є однією з центральних у біології, зокрема у сучасній фітофізіології. Це зумовлено глобальними змінами клімату (потепління, аридизація) та зростанням антропогенного і техногенного преса на біосферу, які загострили проблему агроекологічної надійності рослинництва [4, 11]. За сучасними уявленнями, відповідь клітини (організму) на зміну умов існування здійснюється за рахунок гомеостатичних механізмів, зазвичай, за участю системи контролю каталітичного потенціалу. Коли ж дія чинника виходить за межі толерантної ділянки, для збереження інтактності живої системи гомеостатичних механізмів виявляється недостатньо [5, 6]. Для пристосування необхідний запуск механізму адаптації, пов'язаний із репресією одних і активацією інших генів. Але цей пристосувальний акт може бути досить тривалим у часі. На реалізацію програм геному клітина може витратити години і навіть дні [1, 19, 20].

Одними із важливих полнотантів навколишнього середовища, що, без сумніву, мають вагомий вплив на рослинний організм, є важкі метали, серед яких кадмій посідає особливе місце за рівнем своєї токсичності й темпами нагромадження його у біосфері [1, 2]. З огляду на це, важливу роль відіграє з'ясування механізмів, які забезпечують адаптацію рослинного організму до забруднення важкими металами. Особливо важлива зміна кількості амінокислот-протекторів унаслідок їхнього прямого взаємозв'язку з метаболізмом білків [3, 6]. Амінокислоти пролін і триптофан вважаються одними з універсальних стрес-протекторних сполук вищих рослин [7]. Вміст вільного проліну суттєво підвищується (у десятки, а іноді й сотні разів) за дії стресових чинників на рослини [5, 19]. Проте нагромадження проліну в рослинах під впливом підвищених концентрацій важких металів ще недостатньо вивчене.

Основним завданням нашої роботи було дослідити, як впливатиме хлорид кадмію у різних концентраціях на вміст у проростках пшениці проліну й триптофану як неспецифічних протекторів рослинної клітини за попередньої обробки саліциловою кислотою, а також на ростові параметри проростків.

Об'єктом досліджень слугували проростки пшениці *Triticum aestivum* L. Насіння замочували у саліцилової кислоти у концентрації 0,05 ммоль протягом трьох годин. Після переносили їх на дистильовану воду в чашки Петрі для проростання протягом трьох діб у термостат при температурі 24°C. Згодом проростки переносили на розчини, які містили CdCl<sub>2</sub> у концентраціях 10<sup>-6</sup> М, 10<sup>-7</sup> М і дистильовану воду (контроль).

Через 24 год вимірювали ростові параметри проростків, визначали вміст амінокислот у тканинах: проліну за допомогою кислого нінгідринного реактиву [15], триптофану за допомогою сульфонітратної суміші [9]. Дані опрацьовували статистично з визначенням середнього арифметичного зі стандартною похибкою (M±m).

Результати досліджень сумісного впливу СК та йонів кадмію на морфометричні показники проростків пшениці подано у табл. 1. Як видно з наведених даних, саліцилова кислота підвищує морфометричні параметри, а саме: довжину коренів на 35% і висоту пагонів досліджуваних проростків на 24%, що засвідчує її статус фітогормону (варіант 2). При цьому ріст коренів і пагонів пшениці за дії СК і сумісного впливу абіотичного стресора – йонів кадмію у концентрації 10<sup>-6</sup> М практично не інгібується. Як відомо з літературних джерел, саме ця концентрація важкого металу, хоча й не спричинює загибель рослини, проте суттєво інгібує її ріст [1, 18], що й простежується на проростках, насіння яких не піддавали обробці СК й котрі росли на середовищі з хлоридом кадмію цієї ж концентрації (варіант 3). Висота пагонів проростків пшениці даного варіанта на 13%, а довжина коренів на 16% нижча, ніж у проростків контрольного варіанта. Щодо проростків, які зазнали дії металу у концентрації 10<sup>-7</sup> М, то зниження росту пагонів не таке значне, а корені зазнають практично такого ж інгібування, як проростки 3 варіанта. Це можна пояснити тим, що корені містяться безпосередньо у розчині токсичних йонів і слугують першим їх бар'єром [2].

У проростків, насіння яких піддавали тригодинній обробці 0,05 ммоль СК і котрі росли на середовищі хлориду кадмію нижчої концентрації (10<sup>-7</sup> М), протекторний ефект СК ще помітніший. У даному випадку ростові параметри дослідних проростків перевищують показники контрольних у пагонах на 20% і у коренях на 24% (варіант 6).

Таблиця 1

Довжина коренів і висота пагонів у 4-добових проростків пшениці за сумісного впливу СК та йонів кадмію, (мм; M±m, n=30)

Варіанти дослідів	Орган	
	Пагін	Корінь
1. Контроль (H <sub>2</sub> O)	4,2±0,5	2,5±0,1
2. СК 0,05 Ммоль	5,7±0,3	3,1±0,3
3. Cd <sup>10<sup>-6</sup></sup> М	3,7±0,1	2,1±0,2
4. СК+Cd <sup>10<sup>-6</sup></sup> М	4,4±0,5	2,3±0,5
5. Cd <sup>10<sup>-7</sup></sup> М	4,0±0,2	2,1±0,5
6. СК+Cd <sup>10<sup>-7</sup></sup> М	5,1±0,2	3,1±0,3

Відомо, що інтенсивність росту рослин пов'язана з процесом фотосинтезу. Зокрема, про участь саліцилової кислоти у фотосинтетичному процесі свідчать праці Ю.В. Колупасва [4]. Можливо, саліцилова кислота певним чином реалізує свою участь у захисних реакціях рослин, впливаючи і на процес фотосинтезу в рослинному організмі. Адже стимуляція росту рослини веде також до збільшення синтезу вторинних, потрібних рослинній клітині метаболітів, за допомогою яких і здійснюється відповідь рослинного організму на дію несприятливих чинників абіотичної та біотичної природи [17].

У відповідь на дію стресових факторів клітини вищих рослин можуть акумулювати осмотично активні амінокислоти [15, 16]. До такого роду амінокислот і належить пролін та триптофан. За останні роки отримано принципово нові дані про біологічну роль цих сполук, згідно з якими пролін дестабілізує подвійну спіраль ДНК, знижуючи температуру її плавлення та підвищуючи чутливість до нуклеази [8, 19]. Цей ефект проліну може мати важливе значення у виживанні організму за дії стресу, регулюючи активність генетичного апарату, полегшуючи процеси реплікації, транскрипції і, як припускають, репарації ДНК. Окрім стабілізуючого впливу на структуру макромолекул, пролін і триптофан проявляють антиоксидантну активність, інактивуючи гідроксильні радикали, які індукуються під впливом стресових факторів і сповільнюють транспорт електронів у хлоропластах та мітохондріях [8, 10]. На думку деяких авторів, акумуляція проліну в клітинах у відповідь на дію стресових факторів пов'язана з його синтезом *de novo* [7, 8, 4].

Існує чимало даних про здатність СК підвищувати синтез проліну, котрий вважається одним із потужних поліфункціональних протекторів, що синтезуються в рослині у відповідь на стресові чинники [13, 14]. Тому було доцільним визначити вміст проліну і триптофану в тканинах проростків за дії СК та хлориду кадмію. Результати цих досліджень представлені у табл. 2 і 3.

Таблиця 2

Вміст проліну в органах 4-добових проростків пшениці за сумісної дії СК та йонів кадмію, мкмоль на 1 г сирової речовини

Варіанти досліджу	Орган	
	Пагін	Корінь
1. Контроль (H <sub>2</sub> O)	0,38±0,04	0,45±0,03
2. СК 0,05 Ммоль	0,47±0,03	0,58±0,02
3. Cd <sup>10<sup>-6</sup></sup> М	0,42±0,04	0,55±0,02
4. СК+Cd <sup>10<sup>-6</sup></sup> М	0,44±0,01	0,50±0,04
5. Cd <sup>10<sup>-7</sup></sup> М	0,51±0,03	0,48±0,04
6. СК+Cd <sup>10<sup>-7</sup></sup> М	0,47±0,04	0,41±0,03

Виявлено, що хлорид кадмію у концентрації 10<sup>-6</sup> М підвищує вміст проліну у тканинах проростків пшениці: на 10% у пагонах і на 22% у коренях (варіант 3). За дії важкого металу концентрацією 10<sup>-7</sup> М вміст досліджуваної сполуки зростає на 34% у пагонах і на 6% у коренях (варіант 5). СК також стимулює зростання вмісту проліну як речовини, що володіє антиоксидантними властивостями, й тим самим захищає рослинну клітину від руйнівного впливу активних форм кисню (АФК). Як наслідок, очевидним є підвищення концентрації проліну в коренях і пагонах проростків, насіння котрих обробляли СК й котрі не піддавалися впливу стресора: на 24% у пагонах і на 30% у коренях (варіант 2).

У пагонах проростків, насіння яких обробляли СК і які росли на середовищі із вмістом хлориду кадмію у концентрації 10<sup>-6</sup> М (варіант 4), вміст проліну є вищим, ніж у контрольних проростків і проростків третього варіанта досліджень. Однак концентрація досліджуваної сполуки у пагонах проростків 4 варіанта є нижчою, ніж у тканинах проростків пшениці, насіння котрих лише обробляли СК. У коренях проростків пшениці 4 варіанта вміст проліну є вищим на 11%, ніж у контрольних проростків, проте нижчим на 14%, ніж у коренях проростків 2 варіанта, і на 10%, ніж у коренях 3 варіанта.

Щодо проростків 6 варіанта, то у тканинах їхніх коренів виявлено найнижчий вміст проліну порівняно з іншими досліджуваними варіантами. У пагонах даних проро-

стівок вміст проліну є нижчим, ніж у проростків 5 варіанта, і вищим, ніж у всіх інших варіантах.

Відомо, що вміст проліну за дії стресів, пов'язаних зі зневодненням рослин, може зростати в десятки разів. Такі ефекти спричинені не стільки посиленням протеолізу, скільки активацією синтезу цієї амінокислоти. Нагромадження проліну та деяких інших амінокислот, які виконують антиоксидантну, антиденатураційну, мембрано- та осмопротекторну функції, при абіотичних стресах розглядається як захисна реакція [20].

Водночас визначення вмісту триптофану у досліджуваних проростках показало дещо інші результати. З даних табл. 3 видно, що найвищий вміст – у коренях проростків, насіння яких не замочували у СК і які росли на середовищі хлориду кадмію у концентрації  $10^{-6}$  М (варіант 3). Вміст триптофану у коренях проростків даного варіанта досліджень у 2,5 рази вищий, ніж у проростків 2 варіанта і удвічі вищий, ніж у проростків контрольного варіанта.

Таблиця 3

Вміст триптофану в органах 4-добових проростків пшениці за сумісної дії СК та йонів кадмію, мкмоль на 1 г сирової речовини

Варіанти дослідів	Орган	
	Пагін	Корінь
1. Контроль (H <sub>2</sub> O)	3,14±0,03	2,63±0,03
2. СК 0,05 Ммоль	2,43±0,01	2,15±0,04
3. Cd <sup>10<sup>-6</sup></sup> М	3,41±0,05	5,14±0,04
4. СК+Cd <sup>10<sup>-6</sup></sup> М	3,02±0,02	2,22±0,04
5. Cd <sup>10<sup>-7</sup></sup> М	2,14±0,05	4,61±0,04
6. СК+Cd <sup>10<sup>-7</sup></sup> М	4,45±0,04	2,33±0,05

У тканинах коренів проростків пшениці, насіння яких замочували в СК і які росли на дистильованій воді, встановлено найнижчу концентрацію триптофану.

Щодо пагонів, то найнижчим вмістом триптофану характеризувалися тканини проростків, насіння яких не обробляли СК і які росли на середовищі хлориду кадмію у концентрації  $10^{-7}$  М (варіант 5). Найвища концентрація була відмічена у пагонах проростків, насіння яких перед пересаджуванням на середовище з хлоридом кадмію концентрацією  $10^{-7}$  М попередньо замочували в СК (варіант 6) – у 1,5 рази порівняно з контролем та удвічі порівняно з варіантом 5. У пагонах проростків, на котрі діяли тільки хлоридом кадмію ( $10^{-6}$  М), виявлено у 1,5 рази вищий вміст триптофану порівняно з проростками 2 варіанта.

У джерелах літератури описується здатність рослин збільшувати інтенсивність синтезу триптофану за дії різного роду стресорів. Ця амінокислота володіє антиоксидантними властивостями, а, отже, детоксидує руйнівні для рослинної клітини АФК, що, безумовно, утворюються за дії стресора. Окрім того, триптофан є попередником низки активних сполук, зокрема, й ауксину – гормону росту [12, 20].

Таким чином, отримані нами результати засвідчують, що СК стимулює ріст рослин і синтез сполук, необхідних для активації захисних реакцій рослинної клітини, підвищуючи адаптаційний потенціал рослини до дії токсичних іонів кадмію.

1. *Кобилецька М. С., Терек О. І.* Вплив іонів кадмію на вміст фенольних сполук та вільного проліну в рослинах кукурудзи // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2002. Вип. 28. С. 311–316.

2. *Кобилецька М. С., Терек О. І.* Біологічна активність і вміст абсцизової та індоліл-3-оцтової кислот у рослинах кукурудзи за дії хлориду кадмію // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2004. Вип. 35. С. 251–256.
3. *Колесниченко А. В., Грабельных О. И., Побежимова Т. П.* и др. Механизмы и функции регулируемого разобщения и фосфорилирования в митохондриях растений // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. біол. 2004. Вип. 1 (4). С. 7–25.
4. *Колупасєв Ю. В.* Стресові реакції рослин. Харків: Харк. держ. аграр. ун-т, 2001. 173 с.
5. *Косаківська І. В.* Роль білків та фітогормонів у загальній стратегії адаптації рослин до стресів // Физиол. и биохим. культ. растений. 2003. Т. 35. № 6. С. 517–526.
6. *Кордюм Є. Л.* Стабільність та пластичність онтогенезу рослин // Физиол. и биохим. культ. растений. 2003. Т. 35. № 6. С. 528–534.
7. *Кузнецов В. В., Шевякова Н. И.* Пролін при стрессе: Биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 321–336.
8. *Лобачевська О. В.* Вміст вільного проліну та активність антиоксидантного захисту у мохоподібних за стресових умов // Чорноморський ботан. журн. 2008. Т. 4. № 2. С. 230–236.
9. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И. Ермакова. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
10. *Рябушкина Н. А.* Синергизм действия метаболитов в ответных реакциях растений на стрессовые факторы // Физиология растений. 2005. Т. 52. № 4. С. 614–621.
11. *Терек О. І.* Механізми адаптації та стійкості рослин до несприятливих факторів довкілля // Журн. агробіології та екології. 2004. Т. 1. № 1–2. С. 41–56.
12. *Шакирова Ф. М., Сахабутдинова А. Р.* Сигнальная регуляция устойчивости растений к патогенам // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123. № 6. С. 563–572.
13. *Alvarez M.* Salicylic acid in the machinery of hypersensitive cell death disease resistance // Plant Mol. Biol. 2000. Vol. 44. P. 429–442.
14. *Bates L. S., Waldren R. P., Teare I. D.* Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies // Plant Soil. 1973. Vol. 39. P. 205–207.
15. *Catinot J., Buchala A., Abou-Mansour E., Mettraux J.* Salicylic acid production in response to biotic and abiotic stress depends on isochorismate in *Nicotiana benthamiana* // FEBS Letters. 2008. Vol. 582. P. 473–478.
16. *Gregory J., Rairdan and Terrence P. Delaney.* Role of Salicylic Acid and NIM1/NPR1 in Race-Specific Resistance in Arabidopsis // Genetics. 2002. Vol. 161. P. 803–811.
17. *Hayat S.* Salicylic acid: A Plant Hormone. Sptinger, 2007. 401 p.
18. *Kachmar B. B., Kobyletska M. S., Terek O. I.* Catalase Activity And Hydrogen Peroxide Portion in the tissues of sunflower germs *Helianthus annuus* L under the influence of salicylic acid and cadmium ions // Materialy Jubileuszowej V Ogolnopolskiej Konferencji Naukowej «Mlodzi naukowcy – praktyce rolniczej». Rzeszow. 2009. P. 17-20.
19. *Kachroo P., Srivathsa C., Durov A.* et al. Role of Salicylic Acid and Fatty Acid Desaturation Pathways in *ssi2*-Mediated Signaling // Plant Physiology. 2005. Vol. 139. P. 1717–1735
20. *Sanchez E., Lopes-Lefebvre L., Garcia P.* et al. Prolin metabolism in response to highest nitrogen dosages in green bean plant (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) // Plant Physiology. 2001. Vol. 158. P. 593–598
21. *Xinnian Dong.* SA, ethylene, and disease resistance in plants // Current option in Plant Biology. 2005. Vol.1. P. 316–323.

**GROWTH PARAMETERS, PROLINE AND TRYPTOPHAN CONTENT  
IN WHEAT *TRITICUM AESTIVUM* L. GERMS UNDER THE CADMIUM IONS  
AND SALICYLIC ACID INFLUENCE**

**B. Kachmar, M. Kobyletska, O. Terek**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: dana-kachmar@rambler.ru*

The effect of salicylic acid (SA) in concentrations of 0,05 mmole on growth parameters amino acid such us – proline and tryptophan content in the roots and shoots of the wheat *Triticum aestivum* L. germs was investigated. Our researches reveals that SA causes protection effect on the germs under the heavy metals influence. Plant growth proline content increased under the salicylic acid influent. Tryptophan content was on the control level in the roots and increased in the shoots.

*Key words: Triticum aestivum* L, salicylic acid (SA), cadmium ions, proline, tryptophan, growth.

**РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ, СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА И ТРИПТОФАНА  
В РОСТКАХ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM AESTIVUM* L. ПОД ДЕЙСТВИЕМ  
САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ИОНОВ КАДМИЯ**

**Б. Качмар, М. Кобылецкая, О. Терек**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: dana-kachmar@rambler.ru*

Исследовано влияние салициловой кислоты (СК) в концентрации 0,05 ммоль на ростовые параметры и содержание аминокислот – пролина и триптофана – в ростках пшеницы *Triticum aestivum* L. под действием хлорида кадмия ( $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  М). Обнаружено протекторное влияние исследуемого фитогормона на растительный организм под действием тяжелого металла. При обработке семян СК стимулировался рост ростков пшеницы, увеличивалось содержание пролина, однако содержимое триптофана оставалось на уровне контроля в корнях и снижалось в побегах.

*Ключевые слова: Triticum aestivum* L., салициловая кислота, ионы кадмия, пролин, триптофан, рост.

Стаття надійшла до редколегії 30.11.09

Прийнята до друку 29.12.09