

О.І. ПАЦУЛА, С.О. РИБАК

Львівський національний університет ім. Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005

ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ В РОСЛИНАХ СОНЯШНИКА ПІД ЧАС АДАПТАЦІЇ ДО ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ

ключові слова: Helianthus annuus L., кадмій, глутатіон

key words: Helianthus annuus L., cadmium, glutathione

O.I. PATSULA, S.O. RYBAK

CONTENT OF REDUCED GLUTATHIONE IN THE PLANTS OF SUNFLOWER UNDER CADMIUM TREATMENT

Ivan Franko National University of Lviv
4 Hrushevsky str., Lviv, 79005, Ukraine

The involvement of the reduced form of glutathione in the defense against cadmium was studied in the roots and shoots of *Helianthus annuus* L. Three days germinated plants were grown on 1,10,100 μM cadmium chloride 7- and 14-days. Content of glutathione increased markedly in the roots of *Helianthus annuus* L under cadmium treatment in comparison with the control (H_2O). The results also indicated that under lower cadmium concentration plants had also lower glutathione concentration.

Поглинання важких металів рослинами призводить до призупинення росту й розвитку, порушення фотосинтезу, дихання та інших біохімічних процесів [1]. Крім того, надходження їх у рослинні клітини призводить до оксидантного стресу, через утворення активних форм кисню. Тому протягом останніх років усе більший інтерес приділяється функції глутатіону, який, завдяки своїй унікальній будові, виконує численні функції в більшості живих організмів. Він, завдяки нуклеофільній природі цистеїну, є досить потужним відновником. У результаті чого, відновлена форма глутатіону (γ -глутаміл-цистеніл-глїцин) ефективно розщеплює пероксиди, які утворюються як і в нормальних умовах, так і за оксидантного стресу [5], який зумовлюють важкі метали. У рослин фізіологічні функції глутатіону можна поділити на дві категорії: метаболізм сірки й захист [6]. Під час оксидантного стресу, що пов'язаний з інгібуванням каталази [2], за пониженої концентрації каталази чи під час обробки озоном спостерігається акумуляція глутатіону. Висока концентрація глутатіону в клітині пов'язана з резистентністю до важких металів, обробка важкими металами призводить до пришвидшення біосинтезу глутатіону в коренях і в культурі клітин [7]. Це не тільки підтверджує значення глутатіону в захисті рослин від різних видів стресу, але й привертає увагу до факту регуляції і сигналізації синтезу глутатіону та його акумуляції. Крім того, глутатіон є попередником біосинтезу фітохелатинів, які беруть участь у процесах адаптації рослин до важких металів, особливо до кадмію, впливаючи на їхні внутрішньоклітинні концентрації. [3]

Метою нашої роботи було дослідження вмісту відновленого глутатіону в рослинах соняшника за умов дії іонів кадмію.

Методика досліджень

Досліди проводили на проростках соняшника *Helianthus annuus* L. сорту 'Рігасох', вирощених на середовищі з різними концентраціями хлориду кадмію (1, 10, 100 мкМ). Контролем служили рослини, вирощені на дистильованій воді. Через 7 діб від початку досліду рослини пересаджували: контроль – на розчині хлориду кадмію 1, 10, 100 мкМ; з розчину 1 мкМ CdCl₂ – на розчині 10, 100 мкМ CdCl₂; з розчину 10 мкМ – на 1, 100 мкМ; з розчину 100 мкМ – на 1, 10 мкМ, на яких вони росли ще 7 діб. Через 7 та 14 діб від початку досліду визначали вміст відновленого глутатіону за методом Лея та Касіди [2].

Наважку рослинного матеріалу гомогенізували у 5% ТХО у співвідношенні 1 : 4 (наважка/об'єм). Гомогенат центрифугували протягом 15 хв за 13000 g. У надосадовій рідині визначали вміст відновленого глутатіону. Інкубаційне середовище містило: 1 мл центрифугату, 2 мл 1,5 мМ DTNB-реагенту в К-фосфатному буфері (рН 7,0), 1 мл Н₂О. Абсорбцію визначали за $\lambda = 412$ нм. Кількість відновленого глутатіону вираховували за калібрувальною кривою і виражали в ммоль GSH на 1 г маси сирової речовини.

Статистичне опрацювання даних проводили, визначаючи середнє арифметичне зі стандартною похибкою середнього ($M \pm m$).

Результати досліджень

На рис. 1, 2 представлені результати впливу різних концентрацій хлориду кадмію на вміст відновленого глутатіону в рослинах *Helianthus annuus* різного віку. Вміст глутатіону в 7-добових рослинах на варіантах з 1 мкМ кадмію був нижчий, ніж у контролі, а на варіантах з 10 і 100 мкМ – вищий. Це явище спостерігалось і в коренях, і в пагонах рослин, хоча загалом у пагонах концентрація відновленого глутатіону була вищою. Можливо це пов'язано з підвищенням активності аскорбат-глутатіонового циклу, у результаті чого збільшується вміст глутатіону. Було показано [7], що збільшення вмісту відновленого глутатіону відбувається в результаті збільшення генерації активних форм кисню і завдяки цьому рослини можуть адаптуватися до змінних умов зовнішнього середовища. У 14-добових рослинах уміст глутатіону в контролі зменшується в коренях і збільшується в пагонах. Але в обох випадках, у коренях і в пагонах, його концентрація на 100 мкМ розчинах хлориду кадмію наближається до контролю.

Після перенесення рослин соняшника (рис. 1, 2. варіанти 5-13) з одних концентрацій кадмію на інші, уміст відновленого глутатіону також змінювався. Так, після пересаджування контрольних рослин на 1, 10 і 100 мкМ розчини кадмію вміст глутатіону підвищувався в коренях і зменшувався в пагонах. Це відбувається, мабуть, через те, що корені, які знаходяться безпосередньо в розчині, швидше реагують на іони кадмію. Після перенесення рослин з 1 мкМ розчину хлориду кадмію на 10 і 100 мкМ вміст глутатіону різко зменшується на варіантах зі 100 мкМ розчином кадмію. Досить помітна зміна вмісту глутатіону спостерігається в коренях після пересаджування рослин з 100 мкМ концентрації на нижчі, уміст глутатіону значно збільшувався порівняно як з контролем, так і зі 100 мкМ розчином кадмію.

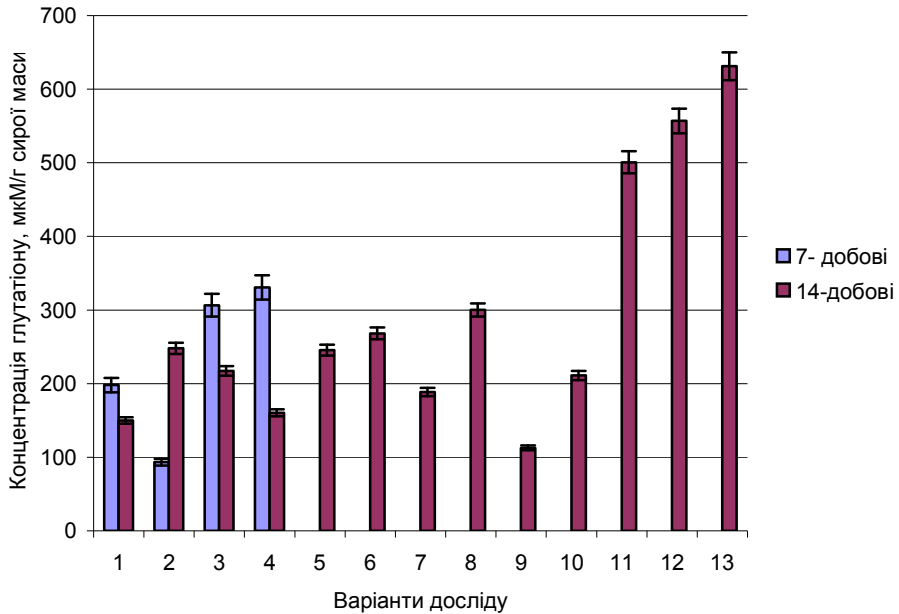


Рис. 1. Вміст відновленого глутатіону в коренях проростків соняшника: 1 – контроль (H₂O); 2 – 1 мкМ Cd; 3 – 10 мкМ Cd; 4 – 100 мкМ Cd; 5 – контроль + 1 мкМ Cd; 6 – контроль + 10 мкМ Cd; 7 – контроль + 100 мкМ Cd; 8 – 1+10 мкМ Cd; 9 – 1+100 мкМ Cd; 10 – 10+1 мкМ Cd; 11 – 10+100 мкМ Cd; 12 – 100+1 мкМ Cd; 13 – 100+10 мкМ Cd.

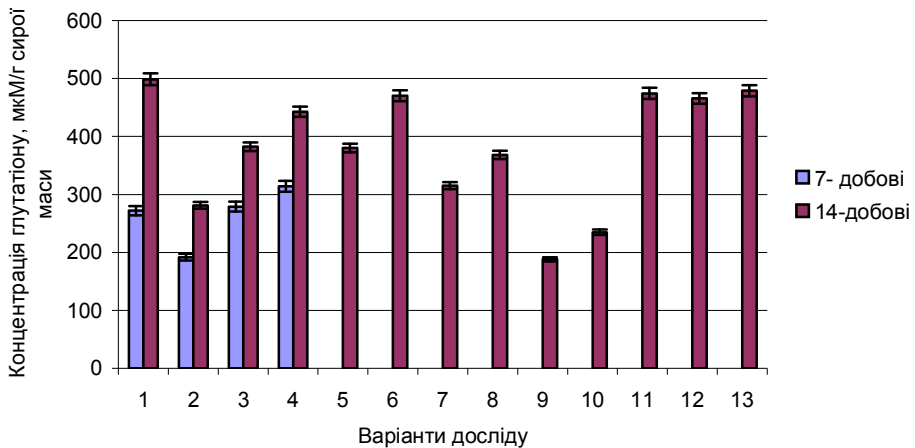


Рис. 2. Вміст відновленого глутатіону в пагонах проростків соняшника: 1 – контроль (H₂O); 2 – 1 мкМ Cd; 3 – 10 мкМ Cd; 4 – 100 мкМ Cd; 5 – контроль + 1 мкМ Cd; 6 – контроль + 10 мкМ Cd; 7 – контроль + 100 мкМ Cd; 8 – 1+10 мкМ Cd; 9 – 1+100 мкМ Cd; 10 – 10+1 мкМ Cd; 11 – 10+100 мкМ Cd; 12 – 100+1 мкМ Cd; 13 – 100+10 мкМ Cd.

Висновки

Загалом одержані результати свідчать, що залежно від концентрації іонів кадмію і віку рослин, концентрація відновленого глутатіону може змінюватися. Зниження концентрації глутатіону, на нашу думку, пов'язане з синтезом фітохелатинів, і цей процес активізується після пересаджування рослин з найнижчої концентрації кадмію на найвищу. Під впливом низьких концентрацій кадмію в рослинах соняшника відбувається активізація адаптаційних процесів, у результаті чого вони можуть витримувати дію іонів кадмію без значних пошкоджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Гуральчук Ж.З.** Механізми устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – **26**, № 2. – С. 107-177.
2. **Kendall A.C., Keys A.J., Turner J.C., Lea P.J.** Increased levels of glutathione in catalase-deficient mutant of barley (*Hordeum Vulgare L.*) // *Plant Sci. Lett.* – 1984. – № 37. – P. 29-33.
3. **Kneer R., Zenk M.H.** Phytochelatins protect plant enzymes from heavy metal poisoning // *Phytochemistry.* – 1992. – **31**, № 8. – P. 2663-2667
4. **Lay M.-M., Casida J.E.** Dichloroacetamide antidotes enhance thiocarbamate sulfoxide detoxification by elevating corn root glutathione content and glutathione-S-transferase activity // *Pesticide Biochem. and Physiol.* – 1976. – **18**, № 6. – P. 442-456.
5. **May M.J., Vernoux T., Leaver C., Van Montagu M., Inze D.** Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development // *Journ. of Exper. Bot.* – 1998. – **49**, № 321. – P. 649-667.
6. **Noctor G., Foyer C.H.** Ascorbate and glutathione keeping active oxygen under control // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1998. – **49**. – P. 249-279.
7. **Schneider S., Bergmann L.** Regulation of glutathione synthesis in suspension cultures of parsley and tobacco // *Bot. Acta.* – 1995. – **108**. – P. 34-40.