

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 577.15:631.811

**ВПЛИВ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ НА ПІГМЕНТНУ СИСТЕМУ
РОСЛИН ГРЕЧКИ ЗА ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ КАДМІЮ ХЛОРИДУ**

Я. Кавулич, М. Кобилецька, О. Терек

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

Досліджено вплив саліцилової кислоти (СК) на морфометричні показники та вміст фотосинтетичних пігментів у рослин гречки (*Fagopyrum esculentum* Moench.) за дії кадмію хлориду. Аналізуючи отримані дані, складно провести межу між первинними і вторинними ефектами, спричиненими дією важких металів (ВМ). Встановлено, що кадмій призводить до деградації хлорофілу і як наслідок – до збільшення вмісту феофітину. Також кадмій хлорид спричиняв підвищення вмісту каротиноїдів. Усі ці первинні (внутрішні) зміни на пряму впливають на вторинні процеси, які проявляються у зовнішніх ефектах, таких як затримка ростових параметрів (зміна довжини коренів і зменшення висоти пагонів), і в інших морфологічних змінах (порушення фотосинтетичних процесів). Саліцилова кислота позитивно впливає на всі компоненти пігментного апарату, зменшуючи утворення феофітинів і каротиноїдів, як на 14, так на 21 доби росту рослин. У результаті експериментів виявлено значні відмінності порівняно з контролем обох морфометричних показників у варіантах з іонами кадмію. Саліцилова кислота спричинювала збільшення висоти пагона та кореня на обидві часові точки росту рослин.

Ключові слова: *Fagopyrum esculentum* Moench., кадмію хлорид, саліцилова кислота, морфометричні показники, фотосинтетичні пігменти, феофітини.

Серед значного переліку харчових культур гречка займає одне з провідних місць, завдяки високим харчовим і лікувально-дієтичним властивостям гречаної крупи. Незважаючи на значну привабливість цієї культури не лише як необхідної для організму людини, але й економічно вигідної завдяки високій цінності гречаного зерна і невисокій собівартості продукції, – вирощуванню гречки ще не приділяється належна увага. Мало-дослідженими залишаються також впливи негативних факторів середовища на ріст і розвиток рослин гречки [6]. Не всі сучасні сорти задовольняють вимоги виробництва як за рівнем урожайності, так і за якістю отримуваної продукції. Особливої уваги заслуговує гречка звичайна сорту Рубра, перевагами якої є високий вміст антоціанів у солоній та її витривалість до пізніх заморозків. Вона пропонується для вирощування за безвідходною технологією для одержання харчового барвника.

З'ясовано, що в багатьох регіонах вміст солей важких металів у ґрунті, воді й повітрі значно перевищує гранично допустимі концентрації (ГДК), що призводить до змін фізіологічних процесів у рослин. Небезпека токсичних іонів важких металів для живих організмів пов'язана, перш за все, з їхнім нагромадженням у рослинах, які посідають важливе місце в ланцюгу живлення. Джерелом важких металів є чорна та кольорова металургія, ТЕС, сільське господарство, що використовує мінеральні добрива, засоби захисту рослин, стічні води з ферм, де утримують сільськогосподарських тварин у великій кількості. Джерелом забруднень також є сміттєзвалища, промислові та побутові стоки [4].

Одним із найнебезпечніших важких металів є кадмій, адже його використовують у різних галузях промисловості. Кадмій потрапляє в атмосферу внаслідок стирання автомобільних шин, асфальту, витікання моторних оливо і (у невеликій кількості) під час аварій кадмієво-нікелевих акумуляторів [4].

Стійкість рослин до іонів важких металів забезпечується молекулярними та фізіологічними механізмами. Перспективною сполукою в цьому напрямі вважають саліцилову кислоту, оскільки вона бере участь у формуванні системного набутого імунітету рослини за дії стресових чинників [26]. Попередні наші дослідження на рослинах пшениці дають нам можливість говорити про те, що саліцилова кислота у певній концентрації (0,05 мМ) підвищує стійкість рослин за дії стресового чинника [7]. Саліцилова кислота (СК) як сигнальна та регульовальна молекула бере участь в активації захисних механізмів рослин за дії іонів важких металів [26]. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив саліцилату на морфометричні показники (довжину кореня та висоту пагона) і вміст фотосинтетичних пігментів у рослин гречки за токсичного впливу кадмію хлориду.

Матеріали та методи

Наші дослідження були проведені на рослинах гречки (*Fagopyrum esculentum* Moench.) сорту Рубра. Цей сорт виведений у Науково-дослідному інституті круп'яних культур Подільської державної аграрно-технічної академії методом рослинного добору з хемомутантів сорту Вікторія. Сорт використовують для виробництва харчового барвника. Перевагами сорту є високий вміст антоціанів, витримує пізні заморозки, в лабораторних дослідженнях зручний для визначення фенольних сполук, адже цей сорт багатий на сполуки фенольної природи. Вирощували рослини гречки методом піщаних культур. Попередньо насіння замочували у дистильованій воді (контроль) та 0,05 мМ розчині СК (дослід) протягом п'яти годин. Насіння пророщували на фільтрувальному папері у чашках Петрі в термостаті за температури 23°C протягом трьох діб. Проростки висаджували на пісок. Варіантами для наших досліджень слугували рослини, вирощені без кадмію та СК, а також рослини, вирощені з насіння, обробленого СК, і ті, які росли на середовищі з іонами кадмію. Кадмій вносили у субстрат у вигляді CdCl_2 з розрахунку 25 мг/кг субстрату, концентрацію обирали згідно з літературними даними [16]. Концентрацію саліцилової кислоти (0,05 мМ) обирали експериментально, виходячи з попередніх наших досліджень [7]. Дослідження проводили на 14 і 21 добу росту рослин, аналізували морфометричні показники, визначали вміст фотосинтетичних пігментів за методикою Хольм-Веттштейна [10]. Вміст феофітинів аналізували спектрофотометрично після додавання до ацетонового екстракту 25% HCl [14]. Морфометричні показники визначали за стандартними методиками [12]. Повторність дослідів була трикратною.

Результати і їхнє обговорення

Іони важких металів (ВМ) негативно впливають на рослинний організм. Високі концентрації призводять до загальних, специфічних, малоспецифічних, фізіологічних і біохімічних змін. Найбільш характерними ознаками при надлишку ВМ у рослинному організмі є: пошкодження мембран тилакоїдів, зміна активності ферментів (каталази, пероксидази та ін.), зниження функціонування фотосинтетичного апарату, гальмування дихання, гормональний дисбаланс, порушений транспорт асимілятів, зміна водного режиму та ін. Усі ці первинні зміни ведуть до низки вторинних ефектів, які призводять до загального зниження росту і розвитку в рослинному організмі [13].

Найбільша концентрація іонів кадмію в уражених рослин є завжди в коренях, менша – у листках і генеративних органах, практично немає їх у зерні [9]. Найзагальнішими

ознаками фітотоксичності іонів кадмію є хлороз і затримка росту. Проте ще до появи видимих симптомів фітотоксичності іонів кадмію перші пошкодження з'являються на біохімічному рівні (порушується біосинтез білків, жирів, фотосинтез, дихання), пізніше вони поширюються на ультраструктурний (дезорганізація клітинних мембран) і клітинний (деструкція ядра, клітинних оболонок і мезофілу) рівні. І лише після цього розвиваються видимі симптоми пошкодження [11, 15, 16, 25].

Інтенсивність фотосинтезу прямо залежить від екологічних факторів, таких як сонячна радіація, температура, вологість, надходження мінеральних елементів та ін. Зміни всіх цих факторів у будь-який бік здатні змінювати інтенсивність фотосинтезу [1]. Виявлено негативний вплив іонів важких металів на фотосинтез рослин. Важкі метали індукують хлороз листків, які є місцем локального нагромадження ВМ, які виявляються у вигляді хлоротичних плям, некрозів [19]. Зниження концентрації хлорофілу може слугувати біоіндикаторною ознакою забруднення навколишнього середовища важкими металами, а кількість хлоропластів у клітинах мезофілу – показником продуктивності фотосинтезу [5]. Для багатьох культурних рослин характерним було 50% зниження інтенсивності фотосинтезу за дії іонів Cd [22].

Результати наших досліджень показали зниження вмісту хлорофілу *a* та *b* за негативного впливу кадмію хлориду, також варто зауважити, що зниження вмісту хлорофілу *b* було більш вираженим (практично на 50%) щодо хлорофілу *a* та контрольних значень (див. таблицю). Деякі дослідники вважають, що нагромадження металів у листках спричинює зменшення кількості хлорофілу *a* та інгібування його синтезу, і що ця форма пігменту є більш чутливою до забруднювачів, а хлорофіл *b* характеризується більшою стійкістю, хоча ці факти не до кінця встановлені [2, 21].

Вміст хлорофілів і каротиноїдів у рослинах гречки *Fagopyrum esculentum* Moench.
за дії кадмію хлориду та саліцилової кислоти, мг/г ($M \pm m$, $n=3$, * – $\geq 0,95$)

Варіант	Хлорофіл <i>a</i>		Хлорофіл <i>b</i>		Хлорофіл <i>a+b</i>		Каротиноїди	
	14 доба	21 доба	14 доба	21 доба	14 доба	21 доба	14 доба	21 доба
Контроль	0,104±0,07	0,177± 0,08	0,057± 0,03	0,085± 0,03	0,161± 0,05	0,262± 0,08	0,057± 0,04	0,062± 0,04
СК	0,123±0,06*	0,167± 0,08*	0,070± 0,02*	0,079± 0,03*	0,193± 0,09	0,246± 0,02	0,047± 0,05*	0,070± 0,05*
Cd	0,084±0,04*	0,108± 0,07*	0,036± 0,02*	0,032± 0,02	0,120± 0,07*	0,140± 0,07*	0,071± 0,05*	0,107± 0,02
СК+Cd	0,077±0,07*	0,126± 0,05	0,034± 0,02*	0,057± 0,03*	0,111± 0,07	0,173± 0,09*	0,048± 0,02	0,082± 0,04*

Чутливими до дії ВМ є каротиноїди, які входять до складу пігмент-білкового комплексу мембранної системи хлоропластів і виконують роль додаткових пігментів. При збільшенні в середовищі полютантів спостерігається протилежний ефект, ніж реакція хлорофілу – кількість каротиноїдів зростає в листках толерантних видів рослин. Кадмієве забруднення індукувало зростання вмісту каротиноїдів у обох часових точках росту рослин. Більш вираженими були показники на 21 добу росту рослин, кількість каротиноїдів у цей період була практично вдвічі більшою у варіанті з іонами кадмію. Причиною цього, на нашу думку, є триваліша дія стресового чинника. Саліцилова кислота спричинює зменшення вмісту цих пігментів, наближаючи їхні значення до контролю. Зростання суми жовтих пігментів відіграє захисну роль, оберігаючи хлорофіл від фотоокиснення. Вони, подібно до каталази, блокують нагромадження пероксиду, який згубно діє на клітини [13].

Аналізуючи морфометричні показники досліджуваних рослин гречки, спостерігали зменшення довжини коренів у всіх дослідних варіантах, включаючи контроль. За умов впливу кадмій хлориду як на 14, так і на 21 доби росту рослин ми спостерігали підвищення цього показника (рис. 1). Саліцилова кислота – речовина фенольного походження, яку вважають рослинним фітогормоном, її властивості впливають на формування фітоімунітету, з одного боку, а з іншого, внаслідок фенольної природи, саліцилова кислота може виступати інгібітором росту за дії стресового чинника [8].

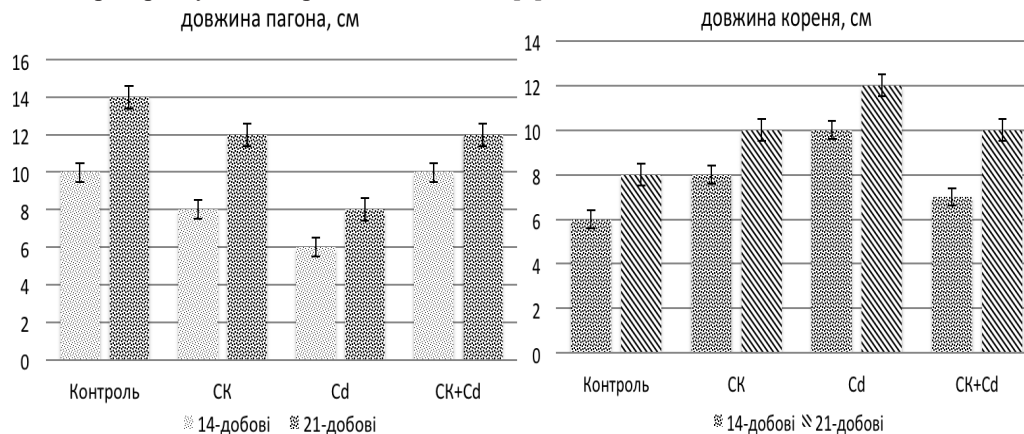


Рис 1. Довжина пагона та кореня у рослинах гречки *Fagopyrum esculentum* Moench. за дії кадмію хлориду та саліцилової кислоти, см.

У результаті досліджень нами було виявлено значні відмінності щодо контролю у висоті пагона у варіантах з іонами кадмію як на 14 так і на 21 доби росту рослин гречки. Спостерігали зниження висоти пагона у варіанті з кадмієм щодо контролю та збільшення цього показника за дії 0,05 мМ саліцилової кислоти. Всі отримані значення висоти пагона практично не перевищували контрольних (рис. 1).

Вивчаючи вплив ВМ на рослинний організм, все ж складно провести межу між первинними і вторинними ефектами, які спричинені їхньою дією. Виявлено пряму залежність інгібування росту коренів і пагонів від концентрації іонів важких металів, у цьому разі чутливіші корені, що, мабуть, пов'язано з їхньою бар'єрною функцією [18].

Окрім хлорофілів, значною частиною пігментного фонду є феофітин *a* і феофітин *b*. Між вмістом хлорофілів і феофітинів ми побачили залежність, насамперед для хлорофілу *a* (табл. 1). Зміни в будові хлорофілів і утворення феофітинів також слугує біоіндикаційною ознакою рослинного організму на дію стресора. Відомо, що у пластидах феофітини утворюються під час темнових реакцій фотосинтезу та деградації хлорофілів, а саме втрати магнію внаслідок підвищення концентрації поза- та внутрішньоклітинного кальцію [20, 24].

Важливою ознакою токсичної дії важких металів, а саме кадмію, є ознаки дефіциту магнію – найважливішого компонента хлорофілу. У літературі є дані, що зміна функціонування хлорофілу може бути наслідком заміщення центрального атома магнію важким металом. Це було показано в досліді на водних культурах за наявності купруму, кадмію і нікелю. Магній замінювався на відповідний метал, що призводило до порушення функцій світлоконцентрування. Такий шлях веде до деградації хлорофілу шляхом перетворення хлорофілу *a* на феофітин *a* з подальшим утворенням феофорбиду *a* [23].

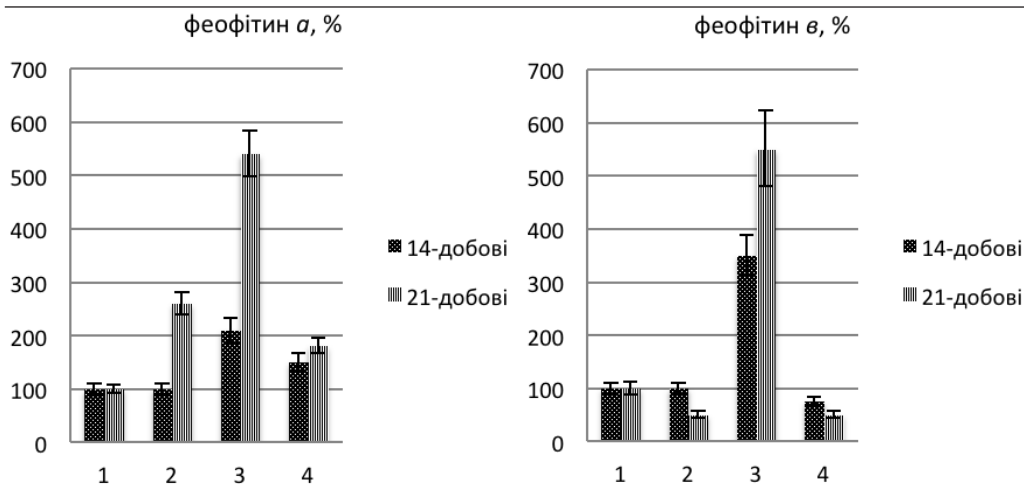


Рис. 2. Вміст феофітинів у рослинах гречки *Fagopyrum esculentum* Moench. за дії кадмію хлориду та саліцилової кислоти, % до контролю (контроль взято за 100%): 1 – контроль; 2 – саліцилова кислота (СК); 3 – кадмій (Cd); 4 – СК + Cd.

Результати наших досліджень (табл. 1, рис. 2) вказують на те, що є залежність між вмістом хлорофілу і феофітинів. Стрес, індукований іонами кадмію, спричинював зменшення хлорофілу *b* порівняно з хлорофілом *a* та протилежні зміни у вмісті феофітинів, тобто кількість феофітину *a* збільшувалася порівняно з феофітином *b*. Отже, шлях перетворення хлорофіл-феофітин-феофорбід не підтверджується. Згідно з літературними джерелами, основну роль ферменту-каталізатора цього процесу виконує феофітиназа, яка взаємодіє лише з молекулами феофітину і не впливає на хлорофіл [20, 24].

Дослідження І. Бойко, М. Кобилецької, О. Терек (2012) показали підвищення вмісту феофітинів щодо контролю в листках пшениці й кукурудзи за дії іонів кадмію. Винятком були листки 28-добових рослин кукурудзи, у яких кількість феофітинів за дії кадмію знижувалася. Щодо саліцилової кислоти, то результати наших досліджень показали зниження вмісту феофітинів як на 14, так і на 21 добу росту рослин. Багато авторів вважають, що СК як стреспротектор забезпечує зниження токсичного впливу іонів кадмію на хлорофіл і таким чином зберігає його нативну будову та нормальне функціонування [3].

Отримані результати засвідчують, що іони кадмію негативно впливають як на вміст фотосинтетичних пігментів, так і на ростові параметри рослин гречки. Кадмій як один із найтоксичніших металів негативно впливає на фотосинтетичні процеси, змінюючи будову (утворення феофітину) та функціонування молекул хлорофілу. Саліцилова кислота здатна пом'якшувати токсичний вплив іонів важкого металу на різні компоненти фотосинтетичного апарату, позитивно впливаючи на будову та функціонування фотосинтетичних пігментів, і збільшувати морфометричні показники за стресових умов.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Барахтенева Л. Влияние сернистого газа на фотосинтез растений. Новосибирск: Наука, 1988. 84 с.
2. Бойко І., Кобилецька М., Терек О. Функціональний стан хлорофіл-білкових комплексів у листках рослин за дії іонів кадмію та саліцилату // Біологічні студії. 2011. Т. 5. № 1. С. 105–112.

3. *Бойко І., Кобилецька М., Терек О.* Деградація хлорофілу в листках рослин за дії йонів кадмію та саліцилової кислоти // *Фізіологія та біохімія культ. рослин.* 2012. Т. 44. № 5. 108 с.
4. *Головач О., Демків О.* Фіторемедіація – ефективний метод очищення забруднених важкими металами ґрунтів // *Наук. вісн. Львів. нац. академії вет. медицини імені С.З. Гжицького.* 2003. Т. 5. № 4. С. 21–27.
5. *Гетко Н.* Растения в техногенной среде. Минск: Наука и техника, 1989. 209 с.
6. *Єфіменко Д.* Гречка і просо в інтенсивних сівозмінах. К.: Урожай, 1992. 168 с.
7. *Кавулич Я., Бойко І., Кобилецька М., Терек О.* Характеристика міцності зв'язку хлорофілу з білково-ліпідним комплексом у рослин пшениці за дії саліцилової кислоти та кадмій хлориду // *Наук. вісник.* 2013. Т. 5. № 4. 471 с.
8. *Колупаєв Ю.* Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессов. К.: Основа, 2010. 352 с.
9. *Кабата-Пендиас А., Пендиас Х.* Микроэлементы в почвах и растениях пер. с англ. М.: Мир, 1989. 439 с.
10. *Мусієнко М., Паришкова Т., Славний П.* Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 200 с.
11. *Мельничук Ю.* Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. К.: Наук. думка, 1990. 352 с.
12. *Третьякова Н.* Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.
13. *Терек О., Пацула О.* Ріст і розвиток рослин: навч. посіб. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2011. 328 с.
14. *Романюк Н., Цвілинюк О., Микієвич І., Терек О.* Фізіологія рослин: метод. вказівки до лабор. робіт з малого практикуму для студ. біол. ф-ту. Львів: Вид. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2003. 78 с.
15. *Феник С., Трофімяк Т., Блюм Я.* Механизмы формирования устойчивости растений к тяжелым металлам // *Успехи совр. биологии.* 1995. Т. 115. № 3. С. 261–275.
16. *Antonovics J., Bradshaw A. D., Turner R. G.* Heavy metal tolerance in plants // *Adv. Ecol. Res.* 1999. Vol. 7. P. 82–86.
17. *Barcelo J.* Plant water relations as affected by heavy metal stress // *J. Plant Nutr.* 1990. Vol. 13. N 1. P. 1–37.
18. *Cai G.* Retining cytoskeleton in plant reproduction. Toward a biotechnological future // *Plant Reprod.* 1999. Vol. 11. N 1. P. 67–70.
19. *Foy S.* Physiology of metal toxicity in plant // *Ann. Rev. Plant Fisiology.* 1998. Vol. 29. P. 512–566.
20. *Kaur S., Rao A., Kumar S. S.* Study on some of the contents of some bryophytes // *Inter. J. Pharmac. Sci. Rev. Res.* 2010. Vol. 5. N 3. P. 80–83.
21. *Muthuchelian K.* Differential action of Cu²⁺ and Cd²⁺ on chlorophyll biosynthesis and nitrate reductase activity in *Vigna Sinesis* L. // *Indian J. Plant Physiol.* 1988. Vol. 41. N 2. P. 169–173.
22. *Padmaja K.* Inhibition of chlorophyl synthesis in *Phasolus vulgaris* L. Seedlings by Cd acetate // *Photosynthetica.* 1990. N 3. P. 399–405.
23. *Schelbert S., Aubry S., Burla B.* Pheophytin pheophorbide hydrolase is involved in chlorofyll breakdown during leaf senescence in Arabidopsis // *Plant Cell.* 2009. P. 767–785.
24. *Tobias M., Niinemets U.* Acclimation of photosynthetic characteristic softmoss *Pleurozium schreberi* to among-habitat and within-canopy light gradients // *Plant Biol.* 2010. Vol. 12. P. 743–745.

25. Van Stevenink R. Identification of Zink containig globules in roots of Zink tolerant ecotype of *deschampsia caespitosa* // Ibid. 1996. P. 1239–1246.
26. Jinchan X., Huan Z., Weizhong L. et al. Role of cytokinin and salicylic acid in plant growth at low temperatures // Plant Growth Regul. 2010. P. 213.

Стаття: надійшла до редакції 17.12.15

доопрацьована 15.04.16

прийнята до друку 20.05.16

INFLUENCE SALICYLIC ACID ON CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN PLANTS BUCKWHEAT FOR TOXIC EFFECTS OF CADMIUM CHLORIDE

J. Kavulych, M. Kobyletska, O. Terek

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

The influence of salicylic acid (SA) on morphometric parameters and content of photosynthetic pigments in plants of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) for the actions of cadmium chloride. The decrease in the gross amount of chlorophyll in plants that grew on the environment with cadmium ions and increasing the content of carotenoids and feofityns. Analyzing the data difficult draw a distinction between primary and secondary effects caused by the influence of heavy metals. Established that cadmium leads to the degradation of chlorophyll and as a result – increase feofityn. Also cadmium induced increased content of carotenoids. All these primary (internal) changes directly influence the secondary processes that are manifested in the externality such as chlorosis, delayed growth parameters (changes the lenght roots and reduce the height shoots) and other morphophysiological changes (changes of photosynthetic processes). Salicylic acid has positive effect on the photosynthesis for the 14- and 21-day plant growth, reduced the content of feofityns and carotenoids. As a result of the experiments revealed significant different comparison to the control of both morphometric parameters in variants with cadmium ions. Salicylic acid caused to increase in the height of the shoots and roots on both time points of plant growth.

Keywords: Fagopyrum esculentum Moench., cadmium chloride, salicylic acid, morphometric parameters, photosynthetic pigments, feofityns.

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПИГМЕНТНУЮ СИСТЕМУ РАСТЕНИЙ ГРЕЧИХИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ КАДМИЯ ХЛОРИДА

Я. Кавулыч, М. Кобылецкая, О. Терек

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

Исследовано влияние салициловой кислоты (СК) на морфометрические показатели и содержание фотосинтетических пигментов у растений гречихи (*Fa-*

gopyrum esculentum Moench.) при воздействии кадмия хлорида. Анализируя полученные данные трудно провести черту между первичными и вторичными эффектами, вызванными действием тяжелых металлов. Установлено, что кадмий приводит к деградации хлорофилла и как следствие – к увеличению содержания феофитина. Также кадмий вызывал повышение содержания каротиноидов. Все эти первичные (внутренние) изменения напрямую влияют на вторичные процессы, которые проявляются во внешних эффектах, таких как задержка ростовых параметров (изменение длины корней и уменьшение высоты побегов) и другие морфофизиологические изменения (нарушения фотосинтетических процессов). Салициловая кислота положительно влияет на все компоненты пигментного аппарата, уменьшает образования феофитинов и каротиноидов как на 14, так и 21 сутки роста растений. В результате экспериментов выявлены значительные различия по сравнению с контролем обоих морфометрических показателей в вариантах с ионами кадмия. Салициловая кислота увеличивала высоту побега и корня на все временные точки роста растений.

Ключевые слова: *Fagopyrum esculentum* Moench., кадмия хлорид, салициловая кислота, морфометрические показатели, фотосинтетические пигменты, феофитины.