

ВПЛИВ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ НА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У РОСЛИНАХ КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ КАДМІЙ ХЛОРИДУ

М. Кобилецька, У. Маленька

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

Досліджено вплив саліцилової кислоти (СК) на вміст фотосинтетичних пігментів у рослин кукурудзи за дії кадмій хлориду. Обробка насіння кукурудзи СК у подальшому спричинювала послаблення ефекту інгібування росту коренів, індукованого присутністю іонів кадмію. Виявлено, що іони важкого металу спричинювали зниження вмісту хлорофілу в пагонах рослин, причому вміст хлорофілу *b* знижувався значно більше, ніж хлорофілу *a*. Зроблено висновок про те, що СК в досліджуваній концентрації у всіх варіантах обробки підвищувала вміст хлорофілів щодо контролю, а також виявлено зростання вмісту каротиноїдів у рослин кукурудзи за дії СК.

Ключові слова: *Zea mays* L., кадмій хлорид, саліцилова кислота, фотосинтетичні пігменти.

Негативний вплив високих концентрацій кадмію на ріст рослин показаний багатьма авторами [2, 6]. Так доведено, що кадмій надходить у рослини і нагромаджується в них. Незважаючи на те, що більшість металу надходить у рослини через кореневі системи, в них же і нагромаджується, частина його все ж таки транспортується у надземні частини. Поглинутий кадмій може впливати на утворення хлорофілів і каротиноїдів, які необхідні для здійснення процесів фотосинтезу, а також виступати каталізаторами або інгібіторами окиснення й інших процесів у клітині [7].

Зростання забруднення навколишнього середовища важкими металами зумовлює розвиток досліджень їхньої токсичної дії на рослини. Поряд із цим, вплив важких металів спричинює зміни на всіх рівнях метаболізму рослинної клітини. Кадмій вважають одним із найтоксичніших металів, оскільки навіть незначна концентрація 10^{-7} – 10^{-8} М зумовлює пригнічення росту культурних рослин [1]. Важкі метали, серед яких кадмій займає особливе місце, за темпами нагромадження у біосфері та ступенем активності становлять найбільшу небезпеку для живих організмів. Це зумовлює актуальність дослідження впливу цих елементів на рослинні організми та пошуку протекторів щодо токсичної дії важких металів на рослинні об'єкти [7].

Саліцилова кислота – сполука багатofункціональна, вважають, що вона може займати ключову позицію в системі реагування рослини на стрес, забезпечуючи неспецифічну відповідь [15]. Вивчення її є перспективним, адже вона може використовуватись як засіб, що підвищує стресостійкість рослин.

Попередником синтезу саліцилової кислоти в рослинах є фенілаланін, який за допомогою фенілаланіламоніліази (ФАЛ) перетворюється в транс-коричну кислоту, яка є ключовою ланкою в синтезі СК. Корична кислота шляхом декарбоксілювання перетворюється в бензойну кислоту (БК), яка, у свою чергу, в присутності фермента 2-гідроксилази бензойної кислоти (2ГБК) перетворюється в СК. Інший ключовий фермент у метаболізмі СК – глікозилтрансфераза СК, яка каталізує перетворення СК в глікозил-СК, основний ме-

таболіт як ендогенної, так і екзогенної СК. Цей шлях синтезу і метаболізму СК характерний для рослин тютюну та рису. Проте в низці рослин синтезові СК передують перетворення транс-коричної кислоти в О-кумарову кислоту, яка потім у результаті декарбоксілювання перетворюється в СК. Оскільки СК є фітогормоном, вміст її у рослинних тканинах зазвичай дуже низький (10–60 нг/г сирої речовини). Проте її вміст у рослинах може зростати за дії стресових факторів у десятки, а іноді й у сотні разів. Рівень саліцилової кислоти в рослинних тканинах контролюється ферментом саліцилат- β -глюкозидазою, який гідролізує неактивну і немобільну сполуку глікозил-СК до вільної СК. Глікозил-СК може накопичуватись у хлоропластах і вакуолі або ж перетворюватись у інші фенольні сполуки [10].

Синтез СК в клітинах може йти альтернативними шляхами, що підкреслює важливість цієї сполуки в житті рослин. В організмі рослин усі метаболічні процеси є взаємопов'язаними, і вплив СК може позначатися на будь-якій ланці метаболізму, зокрема і на фотосинтетичних процесах [14]. Вміст фотосинтетичних пігментів є важливим показником функціонування рослинних організмів, у тому числі й за дії стресових факторів, зокрема іонів важких металів.

Метою нашої роботи було дослідити вплив попередньої обробки СК на морфометричні показники і вміст фотосинтетичних пігментів у тканинах рослин кукурудзи за дії іонів кадмію.

Матеріали та методи

Об'єктом даного дослідження були рослини кукурудзи (*Zea mays* L.) сорту «Титан». Спершу насіння замочували в розчині саліцилової кислоти у концентрації 10^{-4} М протягом трьох годин, контрольне насіння замочували у дистильованій воді. Насіння пророщували в кюветі на фільтрувальному папері, зволоженому дистильованою водою, в термостаті при температурі 24°C протягом 5 діб. Потім проростки переносили на розчини кадмію хлориду в концентрації 10^{-6} моль/л. Окрім того, частину проростків не обробляли СК, а після перенесення їх на розчин із кадмій хлоридом на 6-ту добу обприскували розчином СК у концентрації 10^{-4} М. Контролем слугували рослини, вирощені на дистильованій воді.

Визначення вмісту пігментів проводили за методом Хольм-Веттштейна [11]. **Наваж**ку рослинного матеріалу (0,1 г) попередньо подрібнювали, додавали невелику кількість MgCO_3 та 3–4 мл 100%-ного ацетону і ретельно розтирали, утворену гомогенну масу фільтрували. За допомогою спектрофотометра визначали оптичну густину (D) екстракту при довжинах хвиль, які відповідають максимумам поглинання хлорофілів *a* і *b* для 100%-ного ацетону 662 та 644 нм. Для визначення суми каротиноїдів оптичну густину екстракту вимірювали при довжині хвилі 440,5 нм.

Результати і їхнє обговорення

Найчутливішим фізіологічним процесом рослинного організму до дії важких металів є ріст. Причому ріст кореня чутливіший, ніж ріст пагона. Кадмій найбільше інгібує ріст головного кореня рослини, ніж утворення бічних коренів, у результаті коренева система набуває компактної форми [8]. Найстійкішим до дії цього стресового фактора є проростання насіння, що зумовлено низькою проникністю насінневої шкірки до іонів важких металів. Інгібування росту цими катіонами є наслідком зниження швидкості як поділу, так і розтягу клітин. Проте фактично всі фізіологічні процеси в рослині піддаються негативному впливу важких металів [4].

На підставі вимірювання морфометричних показників (рис. 1) видно, що іони кадмію у досліджуваній концентрації здійснюють значний інгібувальний вплив на ріст коренів і пагонів рослин кукурудзи. Обробка СК послаблює ефект інгібування росту органів

рослин, причому СК в досліджуваній концентрації має особливо суттєвий вплив на ріст коренів за негативної дії іонів важкого металу. Слід зазначити, що при попередній обробці лише СК спостерігається незначне зниження інтенсивності росту рослин щодо контролю.

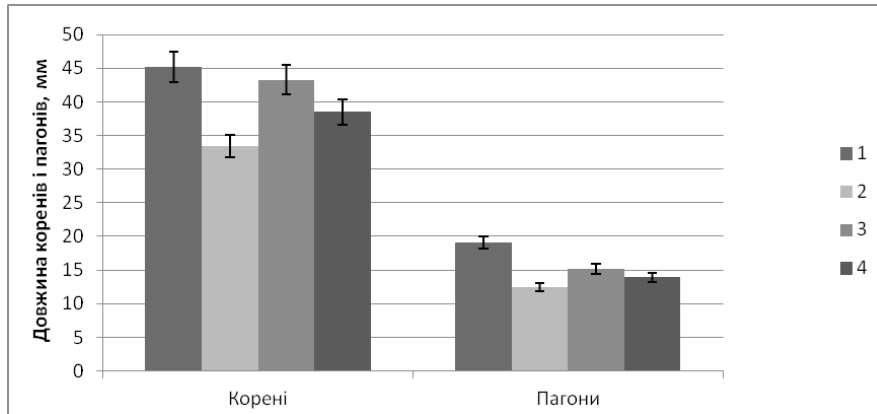


Рис. 1. Довжина коренів і пагонів 7-добових рослин кукурудзи *Zea mays* L. за дії саліцилової кислоти (замочування) та кадмій хлориду, мм: 1 – контроль, 2 – CdCl₂ (10⁻⁶ M); 3 – СК (10⁻⁴ M); 4 – CdCl₂ (10⁻⁶ M), СК (10⁻⁴ M).

На рис. 2 представлені результати вимірювань довжини коренів і пагонів при обприскуванні їх розчином СК на 7-му добу росту. Цікавим є те, що довжина коренів і пагонів при обприскуванні їх розчином СК є вищою порівняно з контролем, що свідчить про здатність СК активувати ріст рослин кукурудзи. Кадмій хлорид діє протилежно, знижуючи та пригнічуючи ріст коренів і пагонів рослин, хоча при одночасній дії іонів кадмію та СК довжина коренів і пагонів є близькою до контролю.

Поглинаючи іони важких металів, рослини зазнають патологічних змін на всіх рівнях – від субклітинного до організмового, що врешті-решт приводить до зменшення продуктивності або смерті рослини. Потрапивши в клітину у великих кількостях, важкі метали порушують мінеральне живлення рослин, гальмується поглинання необхідних катіонів. Стрес і адаптивні реакції у рослин пов'язані з такими основними процесами, як ріст і фотосинтез. Фотосинтез бере безпосередню й активну участь у цих адаптаціях [6].

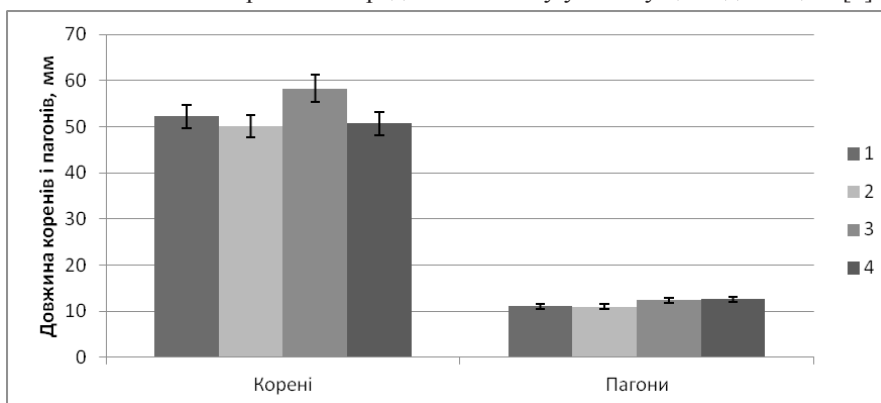


Рис. 2. Довжина коренів і пагонів 7-добових рослин кукурудзи *Zea mays* L. за дії саліцилової кислоти (обприскування) та кадмій хлориду, мм: 1 – контроль; 2 – CdCl₂ (10⁻⁶ M); 3 – СК (10⁻⁴ M); 4 – CdCl₂ (10⁻⁶ M), СК (10⁻⁴ M).

Дані літератури свідчать, що іони важких металів істотно впливають на фотосинтез, структуру хлоропластів і вміст пігментів. Іони кадмію та свинцю викликають зміни ліпідного складу мембран тилакоїдів. Типовим явищем є зменшення вмісту хлорофілу, причому вміст хлорофілу *b* знижується більше, ніж хлорофілу *a* [13]. Аналогічний ефект спричиняють іони Cu^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Hg^{2+} . Зниження концентрації хлорофілу в рослин під дією важких металів може бути наслідком як інгібування процесів біосинтезу ферментів, так і їхнього порушення [9].

Встановлено також зміни метаболізму 5-амінолевулінової кислоти (попередника хлорофілу) під впливом свинцю, ртуті, кадмію. Показано, що кадмій (10–50 мкм) значно інгібує синтез 5-амінолевулінової кислоти й активність її дегідратази, очевидно, внаслідок реакції з SH-групами в активному сайті ферменту [1]. Проте вплив саліцилової кислоти на вміст фотосинтетичних пігментів за дії важких металів вивчений недостатньо.

У процесі досліджень ми спостерігали зміну кількості концентрації фотосинтетичних пігментів у рослин кукурудзи за дії кадмій хлориду і СК (рис. 3).

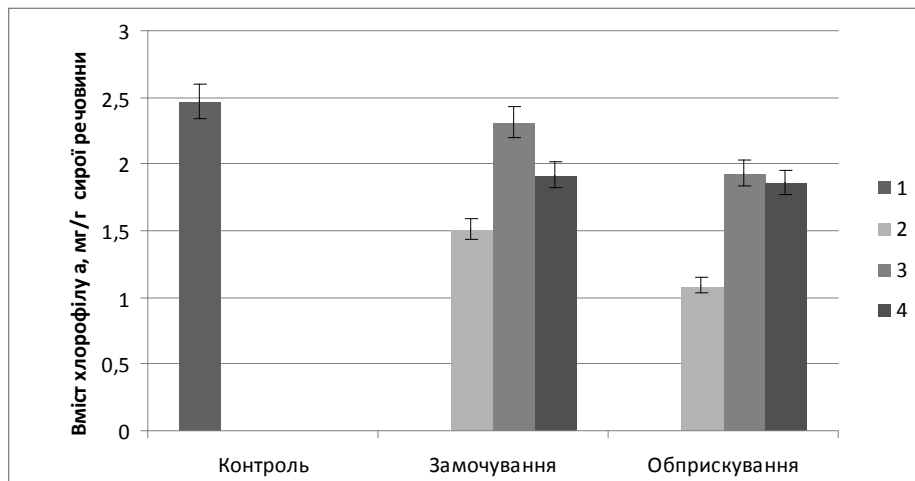


Рис. 3. Вплив замочування насіння та обприскування 6-добових рослин кукурудзи СК на вміст хлорофілу *a* в пагонах 7-добових рослин за дії кадмій хлориду, мг/г сирої речовини: 1 – контроль; 2 – CdCl_2 (10^{-6} M); 3 – СК (10^{-4} M); 4 – CdCl_2 (10^{-6} M), СК (10^{-4} M).

Вміст хлорофілу *a* щодо контролю є найвищим за дії СК (замочування насіння). За дії іонів кадмію спостерігається зворотний ефект, тобто істотне зниження концентрації хлорофілу *a*. За одночасної дії СК і кадмій хлориду вміст хлорофілу *a* є нижчим щодо контролю, але значно вищим порівняно з впливом лише кадмій хлориду. Це свідчить про те, що СК виступає регулятором надходження іонів важких металів у рослину. Незалежно від способу обробки СК вміст досліджуваного пігменту в рослинах за дії кадмій хлориду був майже однаковим. Це, мабуть, свідчить про здатність СК нівелювати токсичний вплив такого важкого металу, як кадмій.

Із рис. 4 видно, що вплив іонів кадмію на проростки кукурудзи призводив до значного зниження концентрації хлорофілу *b* (приблизно в чотири рази), порівняно з концентрацією хлорофілу *a*, причому СК в досліджуваній концентрації (замочування насіння) підвищувала вміст хлорофілу *b* щодо контролю. Спостерігали зростання вмісту хлорофілу *b* щодо контролю за дії СК і значне зменшення цього показника за дії іонів кадмію. Щодо сумісного впливу СК та кадмій хлориду, то у разі замочування насіння вміст пігменту до-

сягав рівня контролю. Цікавими є дані щодо вмісту хлорофілу *b* при обприскуванні рослин. За дії лише СК концентрація хлорофілу *b* знижується, але не настільки, як за впливу кадмій хлориду. Сумісний вплив двох сполук спричинював суттєве зростання концентрації пігменту порівняно з дією лише важкого металу.

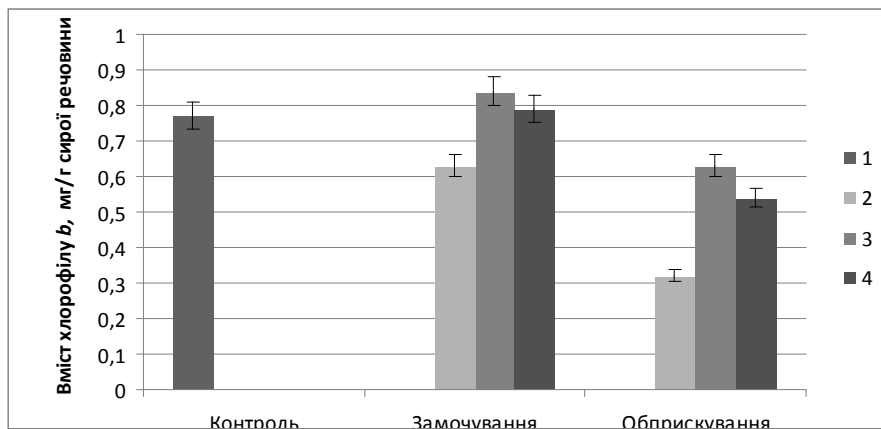


Рис. 4. Вплив замочування насіння та обприскування 6-добових рослин кукурудзи СК на вміст хлорофілу *b* в пагонах 7-добових рослин за дії кадмій хлориду, мг/г сирової речовини: 1 – контроль; 2 – CdCl_2 (10^{-6} M); 3 – СК (10^{-4} M); 4 – CdCl_2 (10^{-6} M), СК (10^{-4} M).

Отже, у 7-добових рослин кукурудзи вміст фотосинтетичних пігментів залежав від наявності іонів кадмію та способів обробки СК. Відомо, що зниження концентрації хлорофілів у листках може слугувати ознакою забруднення навколишнього середовища, в тому числі і важкими металами. Ми визначили також сумарний вміст хлорофілів двох типів у рослинах кукурудзи. Було встановлено, що замочування насіння у розчині СК практично не змінює сумарного вмісту цих пігментів, а кадмій хлорид – знижує майже удвічі (рис. 5). Дія СК, незалежно від способу обробки, спричинює суттєве підвищення вмісту хлорофілів за впливу важкого металу.

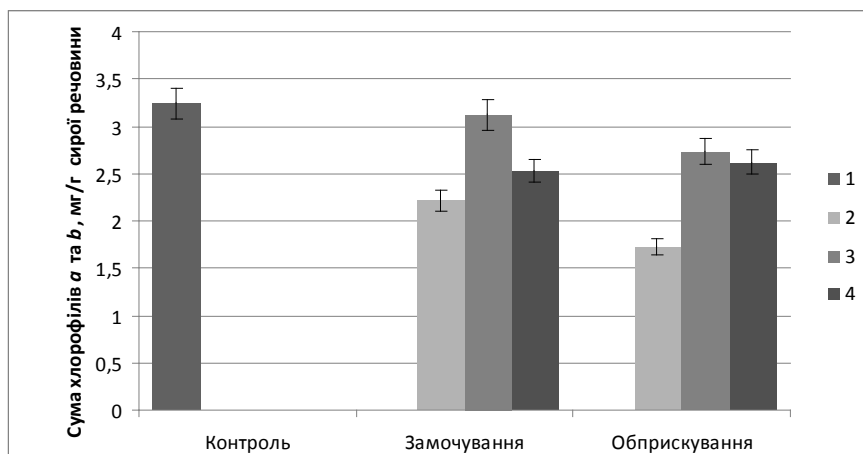


Рис. 5. Вплив замочування та обприскування 6-добових рослин кукурудзи СК на концентрацію хл.а+хл. *b* в пагонах 7-добових рослин за дії кадмій хлориду, мг/г маси сирової речовини: 1 – контроль; 2 – CdCl_2 (10^{-6} M); 3 – СК (10^{-4} M); 4 – CdCl_2 (10^{-6} M), СК (10^{-4} M).

Відомо, що для нормального функціонування фотосинтетичного апарату має значення також певне відношення хлорофілів a і b [3]. Зміна відношення хлорофілів a і b за впливу різних несприятливих екологічних факторів певною мірою відображає функціонування хлоропластів. При малому значенні цього показника спостерігається найменший вміст хлорофілу на гранах. Підвищення цього співвідношення зменшує ступінь агрегації тилакоїдів у мембранах хлоропластів [5]. Деякі автори вказують на те, що зниження співвідношення хлорофілів a/b може характеризувати стійкість рослин [10, 12]. **Результати визначення співвідношення хлорофілів a і b при замочуванні насіння в розчині СК є досить несподіваними (рис. 6). Адже як за дії кадмій хлориду, так і за дії лише СК співвідношення хлорофілів є нижчим порівняно з контролем, хоча при одночасній дії СК та іонів кадмію це число є дещо вищим.**

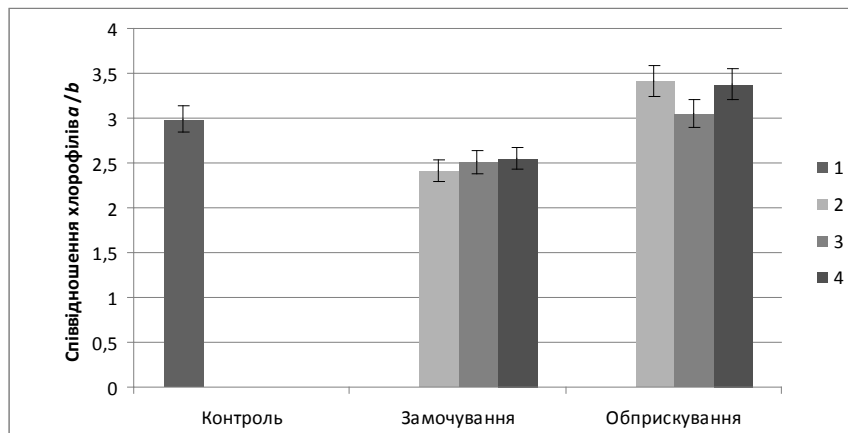


Рис. 6. Вплив замочування та обприскування 6-добових рослин кукурудзи розчином СК на співвідношення вмісту хл. a / хл. b в пагонах 7-добових рослин за дії кадмій хлориду: 1 – контроль; 2 – CdCl₂ (10⁻⁶ M); 3 – СК (10⁻⁴ M); 4 – CdCl₂ (10⁻⁶ M), СК (10⁻⁴ M).

При обприскуванні 6-добових проростків кукурудзи розчином СК спостерігається зворотний ефект. Зокрема, при дії СК співвідношення хлорофілів a/b максимально наближене до контролю, що може свідчити про регуляторний вплив цієї сполуки на процеси фотосинтезу. Але при дії кадмій хлориду цей показник зростає, тобто є вищим щодо контролю і за одночасної дії іонів кадмію та саліцилової кислоти цей показник є аналогічним.

Вміст каротиноїдів за умов забруднення середовища важкими металами зменшується у нестійких видів і зростає порівняно з контролем у толерантних видів, що пов'язано з захисною і адаптивною функціями каротиноїдів. При цьому змінюється співвідношення їхніх окремих форм у зв'язку з різними ступенями впливу важкого металу на кожну з них [15].

За дії кадмій хлориду та СК також виявлено зміни у вмісті каротиноїдів (рис.7). Зниження вмісту каротиноїдів у пагонах рослин щодо контролю за впливу кадмій хлориду можна пояснити високою концентрацією діючого стресора, внаслідок чого знизилась інтенсивність біосинтетичних процесів, зокрема утворення каротиноїдів.

СК у досліджуваній концентрації збільшує вміст каротиноїдів у рослинах кукурудзи порівняно з рослинами, що піддавалися впливу лише важкого металу. Враховуючи, що каротиноїди розглядаються як один із факторів, котрі забезпечують толерантність рослин до різних видів забруднення, можна припустити, що зростання їхньої концентрації в наших дослідженнях пов'язане з захисною функцією.

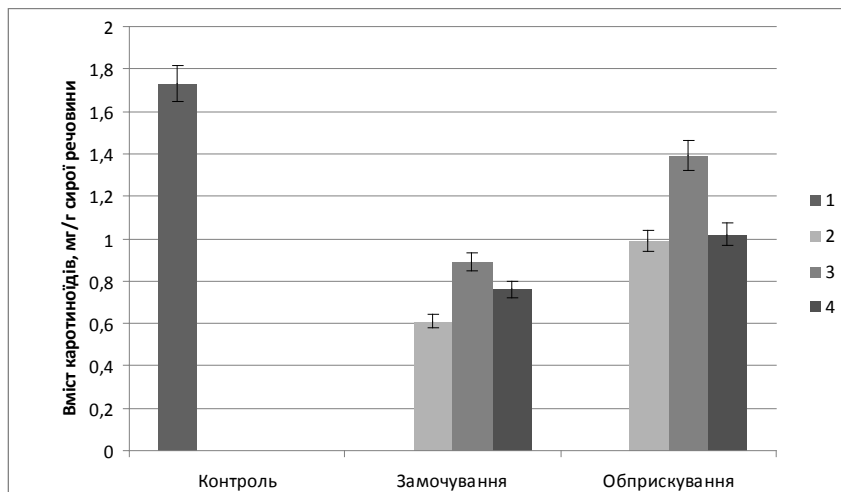


Рис. 7. Вплив замочування та обприскування 6-добових рослин кукурудзи розчином СК на вміст каротиноїдів у пагонах 7-добових рослин за дії кадмій хлориду, мг/г маси сирої речовини: 1 – контроль; 2 – CdCl_2 (10^{-6} M); 3 – СК (10^{-4} M); 4 – CdCl_2 (10^{-6} M), СК (10^{-4} M).

Результати наших досліджень вказують на те, що екзогенна саліцилова кислота впливає на ріст і вміст фотосинтетичних пігментів у рослин. Характер цього впливу залежить від способів обробки регулятором росту, проте загалом ріст рослин і концентрація хлорофілів та каротиноїдів суттєво зростають за дії СК в умовах кадмієвого стресу. Зважаючи на важливість участі пігментів фотосинтезу в функціонуванні рослинного організму, можна стверджувати про протекторний вплив СК щодо дії важких металів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В. А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. 1991. Т. 111. Вып. 6. С. 923–931.
2. Бессонова В. П. Влияние тяжелых металлов на фотосинтез растений. Днепропетровск: Днепропетровский гос. агр. ун-т, 2006. С. 167–208.
3. Булда О. В., Рассадина В. В., Алексейчук Г. Н., Ламан Н. А. Спектрофотометрический метод определения содержания каротинов, ксантофиллов и хлорофиллов в экстрактах семян растений // Физиология растений. 2009. Т. 55. № 4. С. 604–611.
4. Волобуева О., Великанов Г., Балушка Ф. Особенности регуляции межклеточного водобмена в разных зонах корня кукурузы в условиях осмотического и гормонального стрессов // Физиология растений. 2004. Т. 51. № 5. С. 751–758.
5. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. М.: Высш. школа, 1985. 392 с.
6. Гуральчук Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культ. растений. 1994. 26. №2. С. 107–117.
7. Гуральчук Ж. З. Фітотоксичність важких металів та стійкість рослин до їх дії. К.: Логос, 2006. 208 с.
8. Косаківська І. В. Фітогормональна регуляція процесів адаптації рослин до стресів // Укр. ботан. журн. 1997. Т. 54. С. 330–333.
9. Косик О. І. Токсичний вплив важких металів на рослинний організм // Біологічні

- дослідження молодих вчених на Україні: Матеріали II Всеукр. конф. студентів та аспірантів. 2001. Вип. 1. С. 23–24.
10. Молодченкова О. О. Предполагаемые функции салициловой кислоты в растениях // Физиология и биохимия культ. растений. 2001. 33. №6. С. 463–473.
 11. Мусієнко М. М., Паришкова Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 200 с.
 12. Серегин И. В., Иванов В. Б. Гистохимические методы изучения распределения кадмия и свинца в растениях // Физиология растений. 1997. Т.44. № 6. С. 915–921.
 13. Терек О. І. Ріст рослин: навч. посібник. Львів: Видавничий центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2007. 248 с.
 14. Cobbett C. S. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification // Plant Physiol. 2000. 123. P. 825–832.
 15. Khodary S. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in sat-stressed maize plants // Int. J. Agric. Biol. Vol. 6. 2004. P. 5–8.

Стаття: надійшла до редакції 12.12.11

доопрацьована 31.01.12

прийнята до друку 09.02.12

INFLUENCE OF SALICILIC ACID ON CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN MAIZE PLANTS FOR THE ACTION OF CADMIUM CHLORIDE

M. Kobyletska, U. Malenka

*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 the content of photosynthetic pigments in plant of maize for the actions of cadmium chloride has been investigated. The pretreatment of maize seedlings by SA has been lead to the weakening effect of inhibiting the growth of roots by the presence of cadmium ions. Heavy metal ions was shown to caused reduce chlorophyll content in shoots of plants, and chlorophyll b content decreased more than chlorophyll α . Is judged presence that the SA in the investigated concentration in all variants raised the chlorophyll content α and b relative to controls, and the growth of carotenoid content in plant of maize for the actions of SA were shown.

Keywords: Zea mays L., cadmium chloride, salicylic acid, photosynthetic pigments.

**ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА СОДЕРЖАНИЕ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ
КУКУРУЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯ ХЛОРИДА**

М. Кобылецькая, У. Маленькая

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

Исследовано влияние салициловой кислоты (СК) на содержание фотосинтетических пигментов в растениях кукурузы при действии кадмий хлорида. Обработка семян кукурузы СК впоследствии вызывала ослабление эффекта ингибирования роста корней, индуцированного присутствием ионов кадмия. Обнаружено, что ионы тяжелого металла вызвали снижение содержания хлорофилла в побегах растений, при этом содержание хлорофилла *b* снижалось значительно больше, **нежели** хлорофилла *a*. Сделано заключение о том, что СК в исследуемой концентрации во всех вариантах обработки повышала содержание хлорофиллов по сравнению с контролем, а также обнаружено повышение содержания каротиноидов в растениях кукурузы при действии СК.

Ключевые слова: *Zea mays* L., кадмия хлорид, салициловая кислота, фотосинтетические пигменты.