

Фізіологія рослин

УДК. 576.17:612.014:612.4

ВПЛИВ ІОНІВ КАДМІЮ НА ВМІСТ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ТА ВІЛЬНОГО ПРОЛІНУ В РОСЛИНАХ КУКУРУДЗИ

М. Кобилецька, О. Терек

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

Вивчено вплив іонів кадмію концентраціями 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} М на вміст фенольних сполук і акумуляцію проліну в коренях і пагонах рослин кукурудзи. З'ясовано, що зі збільшенням концентрації важкого металу в середовищі зростає кількість вільного проліну та фенольних сполук в осьових органах рослин, а також збільшується процентна частка вільного проліну щодо загальної кількості вільних амінокислот. Обговорено можливі причини зміни названих вище показників за дії іонів кадмію.

Ключові слова: *Zea mays* L., іони кадмію, вільні амінокислоти, пролін, фенольні сполуки.

Важкі метали, серед яких кадмій посідає особливе місце, за темпами нагромадження їх у біосфері та рівнем токсичності становлять найбільшу небезпеку для середовища. З огляду на це важливу роль відіграє з'ясування суті механізмів, що забезпечують адаптацію рослин до підвищених концентрацій важких металів. В основі адаптації рослин до будь-яких стресових чинників є зміна низки фізіологічних і біохімічних процесів [11]. Особливо важлива зміна кількості вільних амінокислот унаслідок їхнього прямого зв'язку з метаболізмом білків. Амінокислоту пролін уважають однією з універсальних стрес-протекторних сполук вищих рослин. Вміст вільного проліну суттєво підвищується (у десятки, а іноді й сотні разів) за дії стресових чинників на рослини [5]. Проте нагромадження проліну в рослинах під впливом підвищених концентрацій іонів важких металів ще недостатньо вивчене.

Одним із чинників, що зумовлюють стійкість рослин до екзогенного впливу, є наявність у них фенольних сполук [10]. Протекторний ефект рослинних фенолів доведено у випадках екстремальних дій, серед них: іонізуюче випромінювання, низькі позитивні температури, засолення, нестача мінеральних елементів [1, 2, 4, 6, 13]. Тому ймовірно є участь фенольних сполук у формуванні стійкості рослин до токсичної дії важких металів.

З огляду на це нашою метою було вивчення зміни кількісного вмісту фенольних сполук та вільного проліну в коренях і пагонах рослин кукурудзи за дії різних концентрацій кадмію.

Об'єкт досліджень – кукурудза *Zea mays L.* сорту Закарпатська жовта зубо-подібна. Використовували тридобові етиольовані паростки, вирощені в термостаті при температурі 24 °С. Паростки переносили на розчин Кнопа з додаванням хлористого кадмію (CdCl_2) концентраціями 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} М. Попередніми дослідженнями доведено, що ці концентрації іонів кадмію послаблюють ріст паростків кукурудзи, але не спричиняють їхньої загибелі [8]. Контрольні рослини вирощували на розчині Кнопа без додавання хлористого кадмію. Аналізували рослини на 12-й день росту на розчинах.

Кількість вільного проліну та інших амінокислот у рослинах вивчали на амінокислотному аналізаторі (АК Т-339, Чехословаччина) [7], попередньо осадивши білок 5 % сульфосаліциловою кислотою (співвідношення наважки рослинного матеріалу (г): сульфосаліцилової кислоти (мл) становило 1:5). Фенольні сполуки із паростків виділяли 80 % етанолом згідно з методиками [7, 9]. Співвідношення наважки рослинного матеріалу (г) до об'єму екстрагенту (мл) становило 1:100. Сумарний вміст фенолів визначали фотометричним методом [7] із використанням реактиву Фоліна–Деніса й калібрувальної залежності за хлорогеновою кислотою („Sigma”, США).

За результатами досліджень з'ясовано, що кадмій з концентраціями 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} М суттєво впливає на вміст вільного проліну та фенольних сполук у коренях і пагонах рослин (табл. 1, 2, 3).

Таблиця 1

Вміст вільного проліну в органах 12-добових рослин кукурудзи за дії іонів кадмію, мг на 1 г сирової маси

Варіанти	Корені		Пагони	
	$M \pm m$	% до контролю	$M \pm m$	% до контролю
Розчин Кнопа	0,630±0,04	100	0,174±0,08	100
Cd^{2+} , 10^{-8} М	0,402±0,06	67	0,174±0,03	100
Cd^{2+} , 10^{-7} М	0,288±0,01	46	0,228±0,04	134
Cd^{2+} , 10^{-6} М	0,576±0,01	91	1,044±0,09	600

Інгібування росту рослин кукурудзи під впливом іонів кадмію [8] супроводжувалося зростанням вільного проліну в коренях і пагонах. Однак це явище простежувалося лише за концентрації кадмію 10^{-6} М. У цьому варіанті рівень вільного проліну в пагонах зростав майже в 10 разів порівняно з контролем. Значимо, що під час дії кадмію концентраціями 10^{-8} , 10^{-7} М рівень вільного проліну знижувався (див. табл. 1). За умов дії різних концентрацій кадмію на рослини змінювалось також процентне співвідношення вільних амінокислот. Максимальний вміст проліну становив 5 % щодо загальної кількості вільних аміно-

кислот у коренях рослин за концентрації кадмію в середовищі 10^{-6} М (див. табл. 2).

Таблиця 2

Процентний вміст вільного проліну в органах 12-добових рослин кукурудзи щодо загальної кількості вільних амінокислот, %

Концентрація кадмію CdCl_2 , моль/л	Органи	
	корені	пагони
Розчин Кнопа	3,9	1,0
10^{-8}	3,1	0,9
10^{-7}	2,2	1,2
10^{-6}	5,0	3,6

Оскільки фенольні сполуки відіграють важливу роль у стійкості рослин до низки екзогенних стресових чинників [1, 2, 4, 6, 13], то ми визначили загальний вміст фенольних сполук у рослинах кукурудзи за дії іонів кадмію. З'ясовано, що із збільшенням концентрації кадмію в середовищі прямо пропорційно зростає і вміст загальних фенольних сполук у пагонах і коренях, досягаючи максимального значення за концентрації кадмію 10^{-6} М (див. табл. 3). Зокрема, за концентрації кадмію в середовищі 10^{-6} М вміст фенольних сполук у коренях рослин був майже вдвічі більшим щодо контролю.

Таблиця 3

Вміст фенольних сполук у 12-добових рослинах кукурудзи за дії іонів кадмію, мг/% сирої маси

Варіанти	Корені		Пагони	
	$M \pm m$	% до контролю	$M \pm m$	% до контролю
Розчин Кнопа	127,3±0,3	100	72,4±0,8	100
Cd^{2+} , 10^{-8} М	134,0±0,1	105	74,3±0,7	103
Cd^{2+} , 10^{-7} М	171,6±0,5	135	99,2±0,3	137
Cd^{2+} , 10^{-6} М	205,2±0,8	161	118,8±0,1	164

Зазначимо, що акумуляція вільного проліну простежувались у рослин за умов засухи, засолення, низьких позитивних температур та інших чинників, що ініціюють зниження водного потенціалу клітинного соку. Водночас у літературі наведена велика кількість даних, які свідчать про важливу роль проліну у виживанні рослин за умов стресу [12, 17, 20].

Сьогодні доведено, що вільний пролін за стресових умов спричиняє поліфункціональний біологічний ефект, який виявляється не лише в осморегуляторній та протекторній, а також і в антиоксидантній, енергетичній та інших функціях, які забезпечують підтримку клітинного гомеостазу та його перехід у новий адаптивний стан [5]. На першому етапі адаптаційного процесу пролін, зазвичай, не досягає максимальної внутрішньоклітинної концентрації. Проте саме на цьому

етапі може виявлятися протекторний ефект проліну, який запобігає інактивації макромолекул і сприяє збереженню цілісності структури мембран, а також його антиоксидантних властивостей. Окрім цього, на першому етапі адаптаційного процесу пролін може бути використовуваний як джерело енергії та відновних еквівалентів [15, 16]. Цим можна пояснити зниження вмісту вільного проліну в рослинах за дії кадмію низькими концентраціями – 10^{-8} , 10^{-7} М.

Щодо фенольних сполук, то ці проміжні продукти обміну мають широкий спектр біохімічної та фізіологічної дії, беруть участь у регулюванні низки внутрішньоклітинних процесів, а саме: в активації або гальмуванні ростових процесів, у регулюванні поглинання та транспорту іонів [4]. Збільшення синтезу фенольних компонентів спричиняють як біотичні [2, 3], так і абіотичні стреси. Є дані про те, що деякі важкі метали використовують як чинники синтезу ізофлавоноїдних компонентів [19].

Отже, оскільки вільний пролін за дії на рослини різних стрес-факторів сприяє підтримці в клітинах водного гомеостазу як осморегулятор [12, 14], захищає білки від денатурації [18] і стабілізує механізм їхнього біосинтезу, а порушення цих процесів характерне для токсичного впливу важких металів, то акумуляція вільного проліну, що простежувалась в органах рослин кукурудзи у відповідь на дію іонів кадмію, пов'язана з активацією неспецифічних адаптивних механізмів у клітинах і тканинах. Із індукцією цих механізмів пов'язане також збільшення синтезу фенольних сполук, які можуть відігравати роль хелаторів іонів важких металів та/або компонентів антиоксидантної системи [19].

1. *Ахмадиева А. Х., Заичкина С. И., Рузиева Р. Х. и др.* Исследование защитного действия природного препарата антоциана (пеларгонидин-3,5-диглюкозид) //Радиобиология. 1993. Т. 33. С. 433–435.
2. *Барбой В. А.* Биологическое действие растительных фенольных соединений. К., 1976.
3. Биохимия фенольных соединений. /Под ред. Дж. Харборна. М., 1968.
4. *Достанова Р. Х., Клышев Л. К., Тойбаева К. А.* Фенольные соединения корней гороха при засолении среды //Физиология и биохимия культурных растений. 1979. Т. 11. С. 40–47.
5. *Кузнецов В. В., Шевякова Н. И.* Проллин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция //Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 321–336.
6. *Макарова Л. Е.* Локализация фенольных соединений в тканях корня кукурузы в условиях низкой положительной температуры //Физиология и биохимия культурных растений. 1994. Т. 26. С. 45–50.
7. *Методы биохимического исследования растений* /Под ред. А. И. Ермакова. Л. 1987.

8. Терек К. В., Юревич М. С., Речевська Н. Я. Нагромадження кадмію проростками кукурудзи та їх реакція на токсичну дію металу // Физиология и биохимия культурных растений. 2000. Т. 32. С. 506–511.
9. Феденко В. С. Взаимосвязь спектральных характеристик и содержание фенольных соединений в растительных экстрактах // Физиология и биохимия культурных растений. 2000. Т. 32. С. 236–239.
10. Феденко В. С., Стружко В. С. Содержание фенольных соединений злаковых культур в условиях антропогенной радионуклидной аномалии // Физиология и биохимия культурных растений. 1996. Т. 28. С. 273–281.
11. Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М., 1977.
12. Шевякова Н. И. Метаболизм и физиологическая роль пролина при водном и солевом стрессе // Физиология растений. 1983. Т. 30. С. 768–783.
13. Школьник М. Я., Смирнов Ю. С. О причинах повышения содержания фенолов у растений при избытке и недостатке минеральных элементов // Растения в экстремальных условиях минерального питания. Л., 1983.
14. Delauney A. J., Verma D. P. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants // Plant Journal. 1993. Vol. 4. P. 215–223.
15. Kohl D. H., Schubert K. R., Carter M. B. et al. Proline metabolism in N₂-fixing root nodules: energy transfer and regulation of purine synthesis // Proc. Nat. Sci. USA. 1988. Vol. 85. P. 2036–2040.
16. Kuznetsov V. V., Rakitin V. Yu., Borisova N. N. et al. Why does heat shock increase salt resistance in cotton? // Plant Physiol. Biochem. 1993. Vol. 31. P. 181–188.
17. Kuznetsov V. V., Shevyakova N. I. Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity. Proline accumulation and phosphorylation of polypeptides // Physiol. Plant. 1997. Vol. 100. P. 320–326.
18. Paleg L., Stevart G. R., Bradbeer J. W. Proline and glycine betaine influences protein salvation // Plant Physiol. 1994. Vol. 75. P. 974–978.
19. Requejo R., Lopez-Valbuena R., Jorriñ I. et al. Accumulation and secretion of isoflavonoids by chickpea (*Chicer arietium* L.) in response to heavy metals // 12-th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology. (Budapest, Hungary, 21–25 August, 2000). P. 196.
20. Taylor C. B. Proline and water deficit: ups, down, ins. and outs // Plant Cell. 1996. Vol. 8. P. 1221–1224.

**INFLUENCE OF CADMIUM IONS ON CONTENT OF
PHENOLIC COMPOUNDS AND PROLINE ACCUMULATION
IN MAIZE PLANTS**

M. S. Kobiletska, O. I. Terek

*The Ivan Franko National University of L'viv,
Hrushevskoho st. 4, L'viv 79005, Ukraine,
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

Changes in the content of phenolic and proline accumulation in maize plants roots and shoots under influence of cadmium ions in different concentration (10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} M) were investigated. Increase of quantity phenolic compounds, free proline accumulation and percentage of proline to total content of free amino acids under influence of heavy metal ions has been shown. Possible causes of changes above – mentioned index under influence of cadmium ions are discussed.

Keywords: *Zea mays* L., cadmium ions, free amino acids, proline, phenolic compounds.

Стаття надійшла до редколегії 25.04.2001
Прийнята до друку 27.07.2001