Рослинництво, кормовиробництво

УДК 581.143.04
© 2014

О.М. Головач,
кандидат біологічних наук
Науково-виробнича асоціація «Племконецентр»

ВПЛИВ СВИНЦЮ НА НАКОПИЧЕННЯ КАЛОЗИ В КЛІТИНАХ КУКУРУДЗИ

Вивчено вплив ацетату свинцю на накопичення калози в коренях та пагонах проростків кукурудзи (Zea mays L.). Установлено, що інтенсивність люмінесценції калози зростає в коренях і пагонах проростків кукурудзи за наявності важкого металу в середовищі. Висвітлено роль калозних відкладень у стійкості рослинних клітин до токсичного впливу важких металів.

Ключові слова: *кукурудза, свинець, накопичення, калоза, люмінесценція, адаптація.*

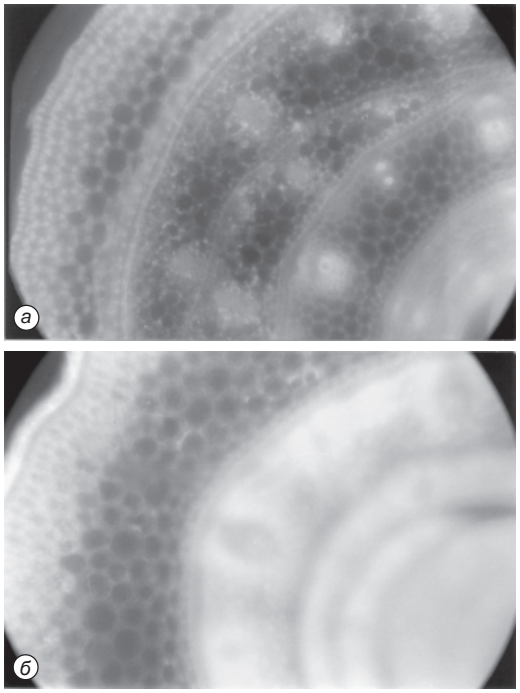
В умовах зростаючого забруднення навколишнього середовища актуальними є дослідження реакції живих організмів на наявність токсикантів у середовищі існування. Вивчення ефектів дії металу на клітинному рівні дає можливість пізнати реакції-відповіді на стрес та досить швидко виявити ушкодження, спричинені токсичним металом. Так, механічне ушкодження, охолодження до 1–2°, нагрівання до 45°, довготривале затемнення листків, вплив ультразвуку, отрут, проникнення вірусів [6, 9, 10] спричиняють відкладання калози між плазмалемою і целюлозною стінкою рослинних клітин. Нещодавні дослідження свідчать про те, що відкладання калози зумовлюється проникненням алюмінію в органи рослин [10,12,13,15], проте ще малодослідженим є вплив свинцю на формування калози. Крім того, проведені дослідження стосуються накопичення калози в перші години після проникнення важкого металу в клітини, а вивченню довготривалого стресу не приділялося уваги.

Мета досліджень — вивчення ролі калозних відкладень у стійкості проростків кукурудзи до довготривалого токсичного впливу іонів свинцю.

Матеріал і методика досліджень. Об'єктом досліджень була кукурудза (*Zea mays* L.*)* сорту Закарпатська жовта зубоподібна. Тридобові етіольовані проростки, вирощені в термостаті за температури 24°С на дистильованій воді та розчинах ацетату свинцю в концентраціях 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} М, переносили на розчин Гельрігеля з додаванням ацетату свинцю в концентраціях 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} М. Частину пророщених на розчинах ацетату свинцю проростків переносили на розчин Гельрігеля без додавання ацетату свинцю. Контролем були пророщені на дистильованій воді та пересаджені на розчин Гельрігеля без додавання ацетату свинцю проростки кукурудзи. Для досліджень використовували 10-денні проростки кукурудзи. Поперечні зрізи осьових органів виконували на відстанях 1–2 мм від кінчика кореня та 1–2 мм вище кореневої шийки. Свіжі зрізи зафарбовували впродовж 10 хв свіжоприготовленим 0,005%-м розчином водорозчинного анілінового синього у 0,15 М розчині K_2HPO_4 (pH 8,2). У подальшому забарвлені аніліновим синім зрізи розглядали під люмінесцентним мікроскопом МЛ 1, де калоза мала жовте забарвлення. Інтенсивність люмінесценції калози визначали на цитофлуориметрі ЛЮМАМ — Р3 [4]. Люмінесценцію збуджували синім світлом. Для цього із світлового потоку ламп надвисокого тиску ДРШ 250 вирізали світлофільтром ФС-1+СС-15 світло в межах λ=380–420 нм. Інтенсивність флуоресценції вимірювали, використовуючи світлофільтр λ_{max}=530±14 нм. Кожний дослід проводили тричі. У межах окремого варіанта дослідів здійснювали 20-разові визначення інтенсивності люмінесценції калози.

Результати досліджень. Калоза (β-1,3-глюкан) є апопластним полісахаридом, нерозчин-

Ãîëîâà÷.p65 18 28.05.2014, 17:58



Накопичення калози в клітинах стебла 10-денних рослин Zea mays L.: у контрольних рослин (а); за 7-денної інкубації на розчині $Pb(CH_3COO)_2$ 10^{-3} М (б). Збільшення: 40 (об'єктив) × 3 (гомалі), забарвлення аніліновим синім

ним у воді, який разом із целюлозою (β-1,4 глюканом) належить до групи скелетних чи структурних вуглеводнів клітинної стінки [12]. Щодо фізико-хімічних властивостей, то слід зазначити, що об'єм калози за набрякання у воді збільшується у 6 разів. Її фізіологічна властивість полягає в тому, що в набряклому стані вона припиняє фільтрувати воду внаслідок щільного прилягання гідратних оболонок, що покривають її міцели [7]. Така здатність калози дає змогу розглядати її відкладення як ефективний бар'єр, що блокує пропускну здатність для розчинів. Фізичні та хімічні властивості калози ефективно використовуються рослинами за впливу стресових чинників.

Накопичення калозних відкладень за впливу ацетату свинцю в концентрації 10^{-3} М спостерігали в стеблах 10-денних проростків кукурудзи (рисунок, б). Інтенсивне свічення калози — в клітинах епідерми та у 2–3-х внутрішніх шарах паренхіми. За наявності свинцю в середовищі збільшувалося накопичення калози навколо провідних пучків. За впливу токсичних іонів, значно інтенсивніших, ніж на контролі (рисунок, а), її накопичення відбувалося поблизу клітинних стінок тканин мезофілу, внутрішній уміст клітин залишався менш забарвленим (рисунок, б).

Про вміст калози в коренях та стеблах свідчила інтенсивність її люмінесценції в забарвлених аніліновим синім зрізах органів кукурудзи. Виявлено, що за впливу іонів свинцю збільшувалося накопичення калози в клітинах коренів та стебел кукурудзи, проте різко відрізнялося від накопичення залози в рослин, пророщених на дистильованій воді та розчинах ацетату свинцю (таблиця). Інтенсивність люмінесценції калози в клітинах рослин, пророщених на дистильованій воді, зростала зі збільшенням концентрації ацетату свинцю в середовищі подальшого росту. Залежність зберігалася в коренях і пагонах досліджуваних проростків, хоча безпосередній контакт з іонами свинцю мали лише корені кукурудзи. У пророщених на розчині ацетату свинцю в концентраціях 10^{-5} та 10^{-4} М та пересаджених на розчин свинцю в концентрації 10^{-3} М коренів кукурудзи інтенсивність люмінесценції була відповідно на 44 і 62% вищою, ніж на контролі, але водночас на 22 та 13% нижчою, ніж у рослин, пророщених на дистильованій воді та пересаджених на розчин свинцю в концентраціях 10^{-3} М. Слід також зазначити, що інтенсивність люмінесценції калози в клітинах коренів кукурудзи, пророщених на розчині ацетату свинцю в концентрації 10^{-3} М та пересаджених на середовище без додавання свинцю, удвічі перевищувала інтенсивність люмінесценції калози контрольних проростків.

Безсумнівно, що накопичення калози є швидкою захисною реакцією рослин у відповідь на вплив стресових чинників. Це підтверджують досліди, які свідчать про те, що накопичення полісахариду відбувається значно швидше, ніж його реутилізація: за впливу ультразвуку і високої температури відкладання калози здійснювалося приблизно за 15 хв, а розщеплення тривало 2–8 днів [7]. В отриманих результатах спостерігалася післядія іонів свинцю: пророщування в найвищій використаній нами концентрації свинцю зумовило накопичення калози в клітинах коренів *Zea mays.* За вимірювання після 7-добового росту цих проростків на середовищі без додавання свинцю виявили вдвічі вищий уміст калози порівняно з контролем, що може свідчити про її довготривале зберігання.

Інтенсивному синтезу калози передує спри-

Ãîëîâà÷.p65 19 28.05.2014, 17:58

Інтенсивність люмінесценції калози в клітинах коренів та стебел проростків кукурудзи за впливу ацетату свинцю (у.о.)

Варіант досліду	Інтенсивність люмінесценції калози, у.о.	
	корені	стебла
Контроль	67,59±4,25	69,94±2,97
$H_2O \rightarrow Pb$, $10^{-5}M$	85,15±3,45	74,23±5,31
$H_2O \rightarrow Pb$, $10^{-4}M$	110,86±7,05	112,25±7,35
$H_2O \rightarrow Pb$, $10^{-3}M$	126,47±4,88	147,18±4,78
Pb, $10^{-5}M \rightarrow H_2O$	88,71±3,47	69,45±5,73
Pb, $10^{-5}M \rightarrow$ Pb, $10^{-5}M$	72,29±4,35	89,74±5,12
Pb, $10^{-5}M \rightarrow$ Pb, $10^{-4}M$	96,53±5,59	96,61±4,37
Pb, $10^{-5}M \rightarrow$ Pb, $10^{-3}M$	98,74±6,97	117,25±5,19
Pb, $10^{-4}M \rightarrow H_2O$	68,51±6,86	67,59±4,13
Pb, $10^{-4}M \rightarrow$ Pb, $10^{-5}M$	78,93±5,39	75,22±5,97
Pb, $10^{-4}M \rightarrow$ Pb, $10^{-4}M$	94,53±5,61	93,64±4,63
Pb, $10^{-4}M \rightarrow$ Pb, $10^{-3}M$	109,83±4,92	104,75±5,06
Pb, $10^{-3}M \rightarrow H_2O$	124,21±5,37	84,53±6,19
Pb, $10^{-3}M \rightarrow$ Pb, $10^{-5}M$	118,53±7,43	85,71±5,97
Pb, $10^{-3}M \rightarrow$ Pb, $10^{-4}M$	126,73±5,89	107,94±5,34
Pb, $10^{-3}M \rightarrow$ Pb, $10^{-3}M$	98,63±6,78	95,42±5,47

Примітка. $P \leq 0,05$.

чинене проникненням токсикантів збільшення рівня внутрішньоклітинного кальцію та деполяризація плазматичної мембрани клітини [16]. Згідно з результатами досліджень інтенсивність люмінесценції калози за впливу зростаючої концентрації свинцю збільшувалася в коренях і пагонах. У кукурудзи є фізіологічний бар'єр на межі корінь-пагін, що блокує потрапляння іонів важких металів у надземні органи [1, 2]. Тому швидку індукцію синтезу калози іонами свинцю в надземних органах можна виключити. На думку ряду дослідників [6, 8, 10, 11, 13, 16], кальцій є вторинним месенджером, відповідальним за трансдукцію сигналу в рослині. Можливо, за його участі відбувався синтез калози в надземних частинах рослин кукурудзи. Гальмування росту коренів та пагонів кукурудзи за впливу іонів свинцю [3] могло бути пов'язане з переключенням синтезу целюлози на синтез калози, що регулюється градієнтом внутрішньоклітинного кальцію [14]. Швидке відкладання калози між клітинною стінкою та плазмалемою і плазмодесмовими каналами пор могло блокувати проникнення токсичних іонів свинцю в цитоплазму, порушуючи водночас ряд процесів, насамперед міжклітинний транспорт. Збільшений синтез калози навколо провідних пучків мав, напевно, захисний характер, запобігаючи проникненню токсичних іонів у елементи флоеми і ксилеми.

Рівень накопичення калози за токсичного впливу важких металів є індикатором стійкості рослини до стресу. Дослідники [3] відзначили, що адаптовані до іонів алюмінію рослини синтезували менше калози, ніж чутливі рослини [15]. Аналогічні результати отримані за впливу іонів свинцю. Пророщування кукурудзи в найнижчій використаній нами концентрації ацетату свинцю сприяло збільшенню металостійкості проростків до зростаючих концентрацій важкого металу [3], їх корені та пагони накопичували менше калози (таблиця) порівняно з проростками, вирощеними на дистильованій воді та пересадженими на середовище з додаванням ацетату свинцю. Ймовірно, у захисті цих проростків від пошкоджувального впливу токсичного іона застосовують інші механізми стійкості до важких металів.

Ãîëîâà÷.p65 20 28.05.2014, 17:58

Висновки

Дослідженнями встановлено, що індуковане іонами свинцю накопичення калози відіграє важливу роль у стійкості проростків кукурудзи до токсикантів. У нестійких до стресового чинника проростків накопичення калози зі збільшенням концентрації ацетату свинцю в середовищі збільшується. З підвищенням стійкості проростків кукурудзи до іонів свинцю захисна роль залози, ймовірно, зменшується.

Бібліографія

1. *Головач О.М., Козловський В.І., Демків О.Т.* Можливості використання кукурудзи (*Zea mays* L.) для фіторемедіації техногенно забруднених грунтів //Біологічні науки і проблеми рослинництва (спец. випуск): зб. наук. праць Уманського ДАУ. — 2003. — С. 847–850.

2. *Головач О., Козловський В., Демків О.* Забруднення сільськогосподарських ґрунтів важкими металами та характер їх перерозподілу у рослинах кукурудзи//Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. — 2004. — Вип. 38. — С. 205–211.

3. *Головач О.М., Демків О.Т.* Вплив іонів свинцю на проростання і ріст рослин кукурудзи//Наук. вісн. Львів. нац. акад. вет. медицини імені С.З. Гжицького. — 2005. — 7, № 4. — Ч. 1. — С. 24–29.

4. *Демкив О.Т., Сытник К.М.* Морфогенез архегониат. — К.: Наук. думка, 1985. — 204 с.

5. *Дженсен У.* Ботаническая гистохимия. — М.: Мир, 1965. — 378 с.

6. *Дячок Ю.В., Дмитриев А.П., Гродзинский Д.М.* Роль Ca^{2+} как вторичного мессенджера в индукции каллозы в культуре клеток *Allium cepa* L.//Физиология растений. — 1997. — 44, № 3. — С. 385–391.

7. *Курсанов А.Л.* Транспорт ассимилянтов в растении. — М.: Наука, 1976. — 647 с.

8. *Antosiewicz D.M.* Study of calcium-dependent lead-tolerance on plants differing in their level of Ca-deficiency tolerance//Environmental pollution. — 2005. — № 134. — P. 23–34.

9. *Brown I., Trethowan J., Kerry M., Mansfield J., Bolwell P.* Localization of components of oxidative cross-linking of glycoproteins and callose synthesis in papillae formed during the interaction between non-pathogenic strains of *Xanthomonas campestris* and French bean mesophyll cells//The Plant Journal. — 1998. — 15, № 3. — P. 333–343.

10. *Devi S.R., Yamamoto Y., Matsumoto H.* Isolation of aluminum-tolerant cell lines of tobacco in simple calcium medium and their responses to aluminum// Physiologia Plantarum. — 2001. — V. 112. — P. 397–402.

11. *Marme D.* The role of calcium and calmodulin in signal transduction//Second messengers in plant growth and development/Eds Boss W.F., Morre D.J. N.Y.: Alan R. Liss. Inc. — 1989. — P. 57–80.

12. *Nagy N. E., Dalen L.S., Jones D.L., Swensen B., Fossdal C.G.* Cytological and enzymatic responses to aluminium stress in root tips of Norway spruce seedlings//New Phytologist — 2004. — № 163. — P. 595–607.

13. *Rengel Z., Zhang W. H.* Role of dynamic of intracellular calcium in aluminium toxicity syndrome// New Phytologist. — 2003. — V. 159. — P. 295–314.

14. *Schmohl N., Horst W.J.* Cell wall pectin content modulates aluminium sensitivity of *Zea mays* L. cells grown in suspension culture//Plant, Cell and Environment. — 2000. — V. 23. — P. 735–742.

15. *Sivaguru M., Yamamoto Y., Rengel Z., Ahn S. J., Matsumoto H.* Early events responsible for aluminium toxicity symptoms in suspension-cultured tobacco cells//New Phytologist. — 2005. — V. 165. — P. 99–109.

Надійшла 11.11.2013.

Ãîëîâà÷.p65 21 28.05.2014, 17:58