

Justyna Szymczak*, Dariusz Kłódka, Beata Smolik*, Marta Pawlica***

**WPŁYW SOLI KADMU NA AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW STRESU
OKSYDACYJNEGO W GLEBIE I KUKURYDZY
(ZEA MAYS VAR. SACCHARATA)**

**EFFECT OF CADMIUM SALT ON THE ACTIVITY OF OXIDATIVE
STRESS ENZYMES IN SOIL AND MAIZE
(ZEA MAYS VAR. SACCHARATA)**

Słowa kluczowe: katalaza, peroksydaza, kukurydza, gleba, kadm.

Key words: catalase, peroxidase, maize, soil, cadmium.

The paper presents the results of influence of cadmium salts on the activity of oxidative stress enzymes (catalase and peroxidase) in soil, leaves and roots of maize. The addition to soil cadmium (II) acetate resulted in changes of catalase and peroxidase activity in the soil and in plant. Regardless of cadmium salt concentration reduction of soil catalase activity was observed, while activation of catalase in both leaves and in roots of maize. Reduction of soil peroxidase activity bring about dose of 0,5 mM Cd²⁺·kg⁻¹, in the case of 2,5 mM Cd²⁺·kg⁻¹ salt concentration approximately 20% increase in activity of this enzymes in soil was recorded. Both used doses a 25% inhibition of peroxidase activity in green parts of plants caused. In the roots of maize small decrease in peroxidase activity (8%) was observed only with higher concentrations of cadmium salts.

1. WPROWADZENIE

Nagromadzenie metali ciężkich w glebie może prowadzić do nadmiernego przedostawania się ich do roślin. Duża zawartość metali ciężkich w roślinach może powodować stres

* *Dr inż. Justyna Szymczak, dr inż. Beata Smolik, mgr inż. Marta Pawlica – Zakład Biochemii, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin; tel.: 91 449 6283; e-mail: justyna.szymczak@zut.edu.pl*

** *Dr inż. Dariusz Kłódka – Zakład Biochemii i Żywności Człowieka, Pomorski Uniwersytet Medyczny, ul. Broniewskiego 24, 71-460 Szczecin; tel.: 91 441 48 06; e-mail: dariusz.klodka@gmail.com*

oksydacyjny [Dong i in. 2006]. Przyczyną tego rodzaju stresu jest niekontrolowany wzrost szkodliwych pochodnych tlenu powstałych w wyniku procesów oksydoredukcyjnych. Przykładem reaktywnych form tlenu jest H_2O_2 , związek o właściwościach utleniających, który w nadmiernej ilości staje się toksyczny dla komórek [Bartosz 2003]. Rośliny posiadają duże możliwości w przystosowaniu się do zatrutego środowiska i detoksykacji groźnych dla komórek substancji [Wierzbicka 1995]. Tolerancja roślin na metale ciężkie nie jest związana tylko z wytwarzaniem fitochelatyn, ale również z aktywnością enzymów szlaku antyoksydacyjnego, które biorą udział w obronie komórek przed działaniem reaktywnych form tlenu [Wojtyła i in. 2006].

Dobrym markerem stresów fizjologicznych w roślinie jest aktywność katalazy i peroksydazy – enzymów biorących udział w obronie przed skutkami stresu oksydacyjnego [Łata 1998].

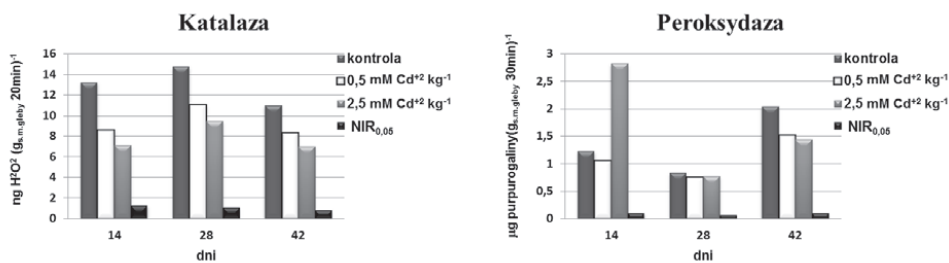
2. MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie wazonowe w warunkach szklarniowych przeprowadzono na próbkach piasku gliniastego lekkiego, o zawartości C_{org} , 0,87%. Materiał glebowy zanieczyszczono octanem kadmu (II) w dawkach 0,5 i 2,5 mM $Cd^{+2} \cdot kg^{-1}$. Materiał kontrolny stanowiła gleba bez dodatku soli kadmu i rośliny w niej rosnące. Rośliną testową w doświadczeniu była kukurydza zwyczajna cukrowa (*Zea mays* var. *Saccharata*). W kolejnych dniach doświadczenia (14-tym, 28-ym i 42-gim) pobrano nadziemne i podziemne części roślin oraz próbki gleby, i oznaczono w nich aktywność enzymów. Pomiar aktywności katalazy roślinnej wykonano metodą Lücka [1963], aktywność katalazy glebowej oznaczono metodą manganometryczną Johnsona i Temple'a [Burns 1978]. Aktywność peroksydazy roślinnej oznaczono metodą Chance i Machy [1955], a peroksydazy glebowej metodą Bartna i Boreleau [Burns 1978]. Dane dotyczące aktywności enzymów odczytano w jednostkach aktywności i przeliczono w stosunku procentowym do aktywności enzymu w materiale kontrolnym (bez dodatku soli kadmu).

3. WYNIKI BADAŃ I DISKUSJA

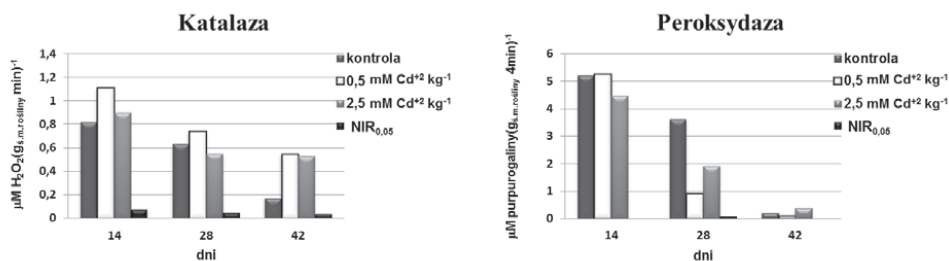
W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że wprowadzenie do gleby związków kadmu spowodowało istotne zmiany aktywności badanych enzymów, zarówno glebowych, jak i roślinnych (rys. 1–3). Aktywność katalazy w glebie zmniejszała się wraz z wzrastającą dawką soli kadmu, niezależnie od terminu pomiaru. Również aktywność peroksydazy glebowej uległa obniżeniu we wszystkich terminach pomiarów, jednakże tylko po zastosowaniu dawki 0,5 mM $Cd^{+2} \cdot kg^{-1}$ (rys. 1). Badania te są potwierdzeniem badań Kizilkaya i in. [2004], którzy badali wpływ kadmu na aktywność katalazy w trzech różnych typach gleb. Obniżenie aktywności katalazy niektórzy autorzy tłumaczą, reakcją metalu z kompleksem substrat-enzym; kompleksowaniem substratu lub blokadą aktywnych katalitycznie grup en-

zymu [Liu 2008].



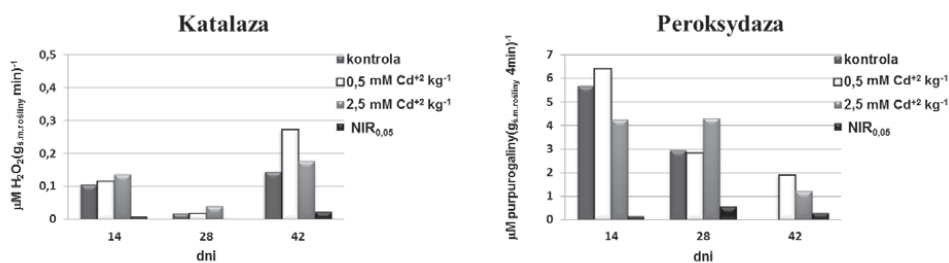
Rys. 1. Wpływ soli kadmu na aktywność katalazy i peroksydazy glebowej

Fig. 1. Effect of cadmium salts on the activity of soil catalase and peroxidase



Rys. 2. Wpływ soli kadmu na aktywność katalazy i peroksydazy w liściach kukurydzy

Fig. 2. Effect of cadmium salts on the activity of catalase and peroxidase in leaves of maize

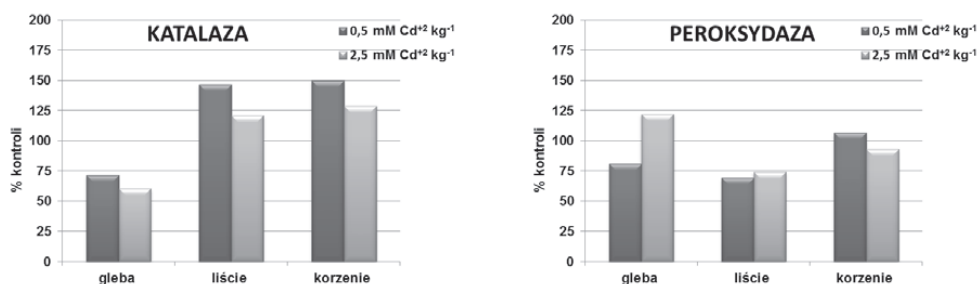


Rys. 3. Wpływ soli kadmu na aktywność katalazy i peroksydazy w korzeniach kukurydzy

Fig. 3. Effect of cadmium salts on the activity of catalase and peroxidase in roots of maize

Po przeanalizowaniu wyników badań własnych zaobserwowano, że wprowadzenie do gleby poszczególnych stężeń soli kadmu spowodowało wzrost średniej aktywności katalazy, zarówno w korzeniach, jak i w liściach kukurydzy. Średnia aktywność katalazy w korzeniach roślin była mniejsza niż w liściach (rys. 4). Największy wzrost aktywności enzymu (o 50%) w liściach roślin zaobserwowano po dodaniu do gleby 0,5 mM·kg⁻¹ soli kadmu (rys.

2). Wyniki niniejszych badań potwierdzają badania Vitoria i in. [2001], którzy podają, że dodanie soli kadmu w ilości (0,25;0,5;1 mM Cd²⁺) powodowało zwiększenie aktywności katalazy w liściach i korzeniach rzodkiewki przez cały okres doświadczenia przeprowadzonego w warunkach hydroponicznych. Wang i in. [2008] twierdzą, że wzrost aktywności katalazy w roślinie jest prawdopodobnie uzależniony od dawki soli metalu ciężkiego i czasu ekspozycji. Większa aktywność katalazy w liściach niż w korzeniach może być związana z większą ilością docierającego światła, a w konsekwencji z większym stężeniem RFT [Vitoria i in. 2001] oraz z uszkodzeniami oksydacyjnymi przez nie wywołanymi [Wang i in. 2008]. Zhang i in. [2005] tłumaczą dużą aktywność katalazy w liściach sadzonek czosnku jako zrekompensowanie niewłaściwej skuteczności peroksydazy roślinnej.



Rys. 4. Procentowe wartości uśrednione aktywności katalazy i peroksydazy z całego okresu doświadczenia, w porównaniu z aktywnością enzymów w materiale kontrolnym

Fig. 4. Percentages averaged values of catalase and peroxidase activity of the whole period of experiment, compared with the activity of enzymes in the control material

Aktywność peroksydazy w pobranych próbkach roślinnych malała wraz z wiekiem rośliny, zarówno w liściach, jak i w korzeniach (rys. 2 i 3). Analizując średnią aktywność drugiego z badanych enzymów – peroksydazy – w roślinach kukurydzy rosnących w glebie z dodatkiem soli kadmu, w poszczególnych stężeniach, zaobserwowano wyraźne różnice w oddziaływaniu metalu w liściach i korzeniach rośliny (rys. 4). Zmniejszenie aktywności peroksydazy stwierdzono w korzeniach kukurydzy po wprowadzeniu do gleby w najwyższym stężeniu soli kadmu (2,5 mM·kg⁻¹), a także w liściach roślin niezależnie od zastosowanego stężenia soli kadmu. Zmiany w aktywności peroksydazy roślinnej są tłumaczone przez Gallego i in. [1996] czasem stresu i rodzajem układu doświadczalnego, a także mogą być modyfikowane genotypem rośliny. Wymienieni wyżej autorzy zaobserwowali zmniejszenie aktywności peroksydazy w liściach słonecznika narażonego na działanie 0,5 mM Cd²⁺. Pandey i Sharma [2002] przy tej samej dawce Cd²⁺ zanotowali także inhibicję aktywności peroksydazy w 42-dniowych liściach kapusty. Inhibicję aktywności peroksydazy roślinnej, tłumaczyć można tym, że jony kadmu mogą bezpośrednio hamować działanie wrażliwych

enzymów (peroksydaza askorbinianowa i dysmutaza ponadtlenkowa) na zwiększoną ilość H_2O_2 [Schützendübel i in. 2002]. Zhang i in. [2005] podają, że przez wydłużenie czasu ekspozycji Cd^{2+} na kadm peroksydaza może być inaktywowana przez wysoki poziom jonów kadmu zgromadzonych w roślinie. Jony kadmu mogły wpływać hamująco na działanie części hemowej enzymu [Pandey, Sharma 2002].

Związki kadmu oprócz zmniejszenia aktywności peroksydazy wywołały w przeprowadzonych badaniach własnych autorów również wzrost aktywności tego enzymu w korzeniach kukurydzy uprawianej w glebie z najmniejszą dawką kadmu – 0,5 mM Cd^{2+} . Podobne rezultaty otrzymali Wang i in. [2008], którzy podają, że zwiększenie aktywności tego enzymu wystąpiło pod wpływem soli kadmu (w dawkach 0,2 i 0,4 mM $CdCl_2$) w liściach kapusty sitowatej i tytoniu.

Zhang i in. [2005] zanotowali także aktywację peroksydazy w liściach czosnku narażonych na kadm (1; 5 i 10 mM $CdCl_2$). Autorzy tłumaczą wystąpienie aktywacji peroksydazy w roślinie związkiem z jej ochronną rolą przed czynnikami stresowymi. Możliwe jest również, że zwiększona aktywność peroksydazy jest spowodowana mikrośrodowiskiem jonowym lub specyficzną ekspresją genów w tkankach korzeni [Dong i in. 2006]. Wzrost aktywności enzymu może być również wynikiem obecności wolnych jonów metali, które nie wiążą się w ścianie komórkowej i nie mogą podlegać fitotoksycznemu gromadzeniu metali [Yurekli, Porgali 2006].

4. WNIOSKI

1. Zanieczyszczenie gleby octanem kadmu (II) spowodowało inhibicję aktywności katalazy glebowej, niezależnie od stężenia soli kadmu oraz inhibicję peroksydazy glebowej przy stężeniu 0,5 mM $Cd^{2+} \cdot kg^{-1}$.
2. Wprowadzenie do gleby soli kadmu w dawce 0,5 mM $Cd^{2+} \cdot kg^{-1}$ spowodowało około 50-procentowy wzrost średniej aktywności katalazy w liściach i korzeniach kukurydzy, a także niewielki wzrost aktywności peroksydazy w korzeniach roślin.
3. Wprowadzenie do gleby soli kadmu w dawce 2,5 mM $Cd^{2+} \cdot kg^{-1}$ spowodowało wzrost średniej aktywności katalazy w liściach i korzeniach kukurydzy o około 25%, inhibicji aktywności peroksydazy natomiast odpowiednio o 25% w liściach i o około 7% w korzeniach roślin.

PIŚMIENICTWO

- BARTOSZ G. 2003. Druga twarz tlenu Wolne rodniki w przyrodzie. PWN. Warszawa.
- BURNS R. G. 1978. Soil enzymes. Wyd. Academic Press. Londyn.
- CHANCE B., MACHY S.K. 1955. Assay of catalase and peroxidases. Meth. Enzymol. 2:764–775.

- DONG J., WU F., ZHANG G. 2006. Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*). *Chemosphere* 64: 1659–1666.
- GALLEGO S.M., BENAVIDES M.P., TOMARO M. 1996. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Sci. Lim.* 121 (2): 151–159.
- KIZILKAYA R., ASKIN T., BAYRAKLI B., SAGLAM M. 2004. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals. *Eur. J. Soil Biol.* 40: 95–102.
- LIU J., XIE J., CHU Y., SUN CH., CHEN CH., WANG Q. 2008. Combined effect of cypermethrin and copper on catalase activity in soil. *J. Soils Sediments* 8: 327–332.
- LÜCK H. 1963. *Catalase. Methods of enzymatic Analysis.* Verlag Chemie, Nowy York i Londyn.
- ŁATA B. 1998. Mechanizmy chroniące roślinę przed stresem oksydacyjnym, wywołanym niekorzystnymi warunkami środowiska. *Post. Nauk Rol.* 6: 115–131.
- PANDEY N., SHARMA CH.P. 2002. Effect of heavy metals Co, Ni and Cd on growth and metabolism of cabbage. *Plant Sci.* 163: 753–758.
- SCHÜTZENDÜBEL A., NIKOLOVA P., RUDOLF C., POLLE A. 2002. Cadmium and H₂O₂-induced oxidative stress in *Populus × canescens* roots. *Plant Physiol. Biochem.* 40: 577–584.
- WANG ZI, ZHANG Y., HUANG Z., HUANG L. 2008. Antioxidative response of metal-accumulator and non-accumulator plants under cadmium stress. *Plant Soil* 310: 137–149.
- WIERZBICKA M. 1995. Oddziaływanie metali ciężkich na rośliny. *Kosmos* 44 (3–4): 641–650.
- VITORIA A.P., LEA P.J., AZEVEDO R.A. 2001. Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochem.* 57: 701–710.
- WOJTYŁA Ł., GARNCZARSKA M., RATAJCZAK L. 2006. Rola reaktywnych form tlenu w procesie rozwoju i kiełkowania nasion. *Post. Biol. Komórki* 3: 543–553.
- YUREKLI F., PORGALI Z. B. 2006. The effects of excessive exposure to copper in bean plants. *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 48 (2): 7–13.
- ZHANG H., JIANG Y., HE Z., MA Mi. 2005. Cadmium accumulation and oxidative burst in garlic (*Allium sativum*). *J. Plant Physiol.* 162: 977–984.