

Olga ZHUK<sup>1</sup> i Agnieszka ROMBEL-BRYZEK<sup>1</sup>

## ODDZIAŁYWANIE KADMU I KWASU SALICYLOWEGO NA AKTYWNOŚĆ METABOLICZNĄ *Lepidium sativum* L.

### EFFECT OF CADMIUM AND SALICYLIC ACID ON METABOLIC ACTIVITY IN *Lepidium sativum* L.

**Abstrakt:** Kadm (Cd) jest metalem ciężkim, który w wyniku działań człowieka stał się głównym zanieczyszczeniem środowiska. Charakteryzuje się wysoką toksycznością dla wszystkich organizmów żywych. Symptodem toksyczności kadmu dla roślin są przede wszystkim zmiany morfologiczne, ograniczenie procesów fotosyntezy oraz stres oksydacyjny. Efekt zwiększenia odporności na stres można uzyskać, stosując różne związki egzogenne. Do takich związków należy między innymi kwas salicylowy (SA). Celem niniejszej pracy jest ocena wpływu kwasu salicylowego na stres metaboliczny u pieprzycy siewnej *Lepidium sativum* wywołany wzrastającymi stężeniami kadmu. W liściach pieprzycy siewnej oznaczano ilości białka, chlorofilu i produktów peroksydacji lipidów (TBARS) oraz aktywność peroksydazy, jednego z enzymów charakterystycznych dla stresu oksydacyjnego. Wyniki badań ujawniły, że kadm w stężeniu 200 mg/dm<sup>3</sup>, zgodnie z oczekiwaniami, negatywnie oddziaływał na wzrost i rozwój pieprzycy siewnej. Jednocześnie badania potwierdziły wpływ kwasu salicylowego na zwiększenie odporności na stres oksydacyjny u pieprzycy siewnej wywołany kadmem. Zastosowanie SA przed moczeniem nasion w roztworze kadmu zwiększyło stężenie białka w liściach w porównaniu do prób traktowanych wyłącznie kadmem, choć nie osiągało stężenia jak w próbie kontrolnej. SA natomiast skutecznie znosił ujemny wpływ kadmu na zawartość chlorofilu *a* i *b*. Ponadto zwiększał aktywność peroksydazy, choć zastosowana dawka (1 g/dm<sup>3</sup>) nie była w stanie całkowicie zahamować procesu peroksydacji lipidów.

**Słowa kluczowe:** kadm, kwas salicylowy, *Lepidium sativum*

#### Wstęp

Kadm jest pierwiastkiem należącym do grupy metali ciężkich, słabo rozpowszechnionym w skorupie ziemskiej. Najczęściej występuje w minerałach rud cynku i ołowiu. W sposób naturalny kadm jest uwalniany do atmosfery podczas wietrzenia skał, pożarów lasów i erupcji wulkanów [1]. W wyniku działań człowieka kadm stał się głównym zanieczyszczeniem środowiska naturalnego. Szacuje się, że uwalnianie kadmu do atmosfery sięga 30 tys. ton rocznie. Spośród wielu antropogenicznych źródeł kadmu do najważniejszych należą procesy spalania, cementownie, przemysł metalurgiczny i wydobywczy. Ważnym źródłem kadmu w glebie są również nawozy sztuczne [2].

Kadm jest powszechnie uznawany za metal pozbawiony roli biologicznej i jednocześnie toksyczny nawet w niewielkich ilościach dla wszystkich organizmów żywych [3]. Jednak w świetle ostatnich doniesień okazało się, że jony kadmu mogą pełnić rolę kofaktora anhidrazy węglanowej u morskiej okrzemki *Thalassiosira weissflogii*, co jest prawdopodobnie odpowiedzią na ubogie zasoby jonów metali w ekosystemach oceanów [4, 5].

Kadm jest pobierany przez rośliny głównie przez system korzeniowy i łatwo transportowany do wyższych części roślin [6]. Symptodem toksyczności kadmu są przede

<sup>1</sup> Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, ul. kard. B. Kominka 6a, 45-032 Opole, tel. 77 401 60 48, email: agarombel@uni.opole.pl

\* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 16, Zakopane, 5-8.10.2016

wszystkim zmiany morfologiczne, stąd obserwuje się wyraźne zahamowanie wzrostu, zmniejszenie powierzchni i chlorozę liści, brązowienie i zniekształcenie korzeni [7].

Toksyczne działanie kadmu u roślin ujawnia się głównie hamowaniem aktywności enzymów zaangażowanych w biosyntezie chlorofilu, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia ilości barwników fotosyntetycznych w komórkach roślinnych i ograniczenia procesów fotosyntezy. Ponadto jony kadmu nasilają w komórkach roślin stres oksydacyjny. Zwiększona produkcja reaktywnych form tlenu prowadzi do utlenienia białek, lipidów oraz kwasów nukleinowych. Efektem tych zmian są zaburzenia przepuszczalności błon komórkowych i wyciek jonów z komórki, zahamowanie aktywności enzymów, spadek podziałów komórkowych i uszkodzenie DNA [7-9].

Jedną z najważniejszych reakcji roślin na wpływ niekorzystnych czynników o różnym charakterze jest zwiększenie zawartości w komórkach sygnałnych cząsteczek, jonów, stres-fitohormonów i metabolitów. Należą do nich aktywne formy tlenu (RFT), tlenek azotu (NO), wapń, kwasy salicylowy (SA) i abscysynowy (ABA), prolamina, prolina i inne związki. Systemy sygnalizacyjne funkcjonują jako jednolita sieć. Najnowsze badania sugerują, że podwyższony poziom kluczowych elementów sygnalizacyjnych może powodować aktywację całego systemu sygnałowego lub jego znacznej części. Oznacza to, że efekt zwiększenia odporności na stres można uzyskać za pomocą różnych związków egzogennych, które są zdolne do aktywowania sieci sygnalizacyjnej, a tym samym reakcji obronnej [10-15]. Stwarza to dodatkowe możliwości wykorzystania adaptogenów o szerokim spektrum działania. Do takich związków przede wszystkim należy kwas salicylowy. SA jest endogennym fitohormonem fenolowym, który jest zaangażowany w różne procesy fizjologiczne. Jednocześnie, SA chroni rośliny przed czynnikami abiotycznymi - ogranicza szkodliwy wpływ zasolenia, temperatury i suszy oraz zmniejsza akumulację RFT, aktywuje dysmutazę ponadtlenkową (SOD), peroksydazę i inne drogi obrony enzymatycznej i nieenzymatycznej [16, 17].

Celem niniejszej pracy jest ocena wpływu kwasu salicylowego na stres metaboliczny u pieprzycy siewnej *Lepidium sativum* wywołany wzrastającymi stężeniami kadmu. Wpływ na procesy metaboliczne u pieprzycy siewnej jonów kadmu i SA wykazano poprzez oznaczenie ilości białka, chlorofilu, produktów peroksydacji lipidów (TBA) oraz aktywności peroksydazy, jednego z enzymów charakterystycznych dla stresu oksydacyjnego. Najczęściej w praktyce wykorzystuje się dwie metody stosowania adaptogenów: przedposiewowe moczenie nasion i opryskiwanie rosnących roślin. Uważa się, że przedposiewowa obróbka nasion jest bardziej skuteczna, dlatego w niniejszej pracy zastosowano moczenie nasion w roztworze SA przed zastosowaniem roztworów kadmu.

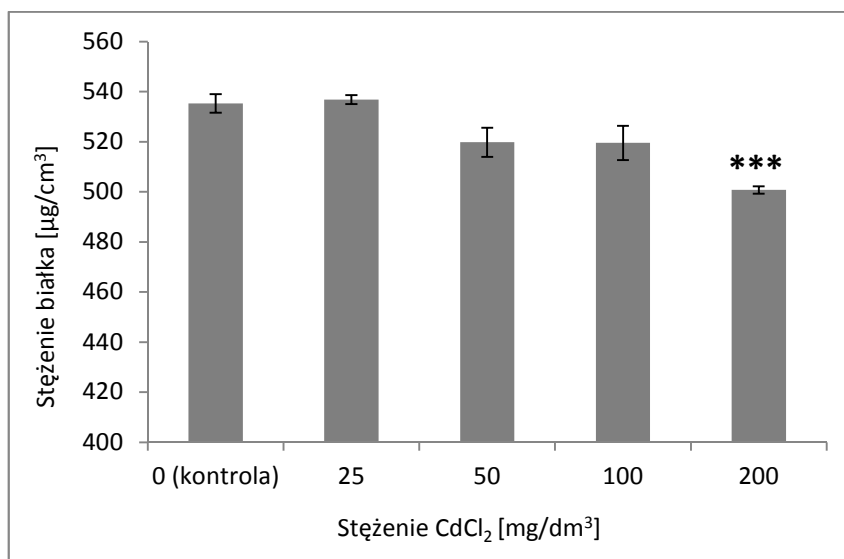
### **Materiały i metody badań**

W celu oceny przeciw stresowego efektu SA pierwszym etapem badań było określenie oddziaływania jonów kadmu na procesy metaboliczne roślin. Nasiona moczone 12 godzin w roztworach chlorku kadmu o stężeniach 25, 50, 100 i 200 mg/dm<sup>3</sup>. Próbę kontrolną stanowiły nasiona moczone w wodzie demineralizowanej. W drugim wariantcie doświadczenia nasiona moczone w roztworze SA o stężeniu 1 g/dm<sup>3</sup>, w trzecim zaś nasiono najpierw moczone 12 godzin w roztworze SA, a następnie po wysuszeniu w roztworach kadmu.

Po 2-tygodniowej uprawie pieprzycy siewnej w liściach roślin oznaczano zawartość białka zmodyfikowaną metodą Lowry'ego [18], stosując jako standard surowiczą albuminę wołową, oraz chlorofilu *a* i *b* metodą ekstrakcji acetonowej [19]. W celu oznaczenia stresu oksydacyjnego w badanych roślinach oznaczano produkty reaktywne z kwasem tiobarbiturowym (TBARS), metodą Heath i Packer [20], uważane za nieenzymatyczne markery procesu peroksydacji lipidów. Aktywność peroksydazy gwajakolowej oznaczano w reakcji gwajakolu z nadtlenkiem wodoru [21].

### Wyniki i ich omówienie

W wyniku moczenia nasion w roztworach kadmu o zróżnicowanym stężeniu (25-200 mg/dm<sup>3</sup>) zaobserwowano zależny od stężenia Cd spadek stężenia białek w liściach 2-tygodniowej pieprzycy siewnej. Wraz ze wzrostem stężenia CdCl<sub>2</sub> stwierdzono mniejsze stężenie białka w badanych próbkach w odniesieniu do kontroli (rys. 1).

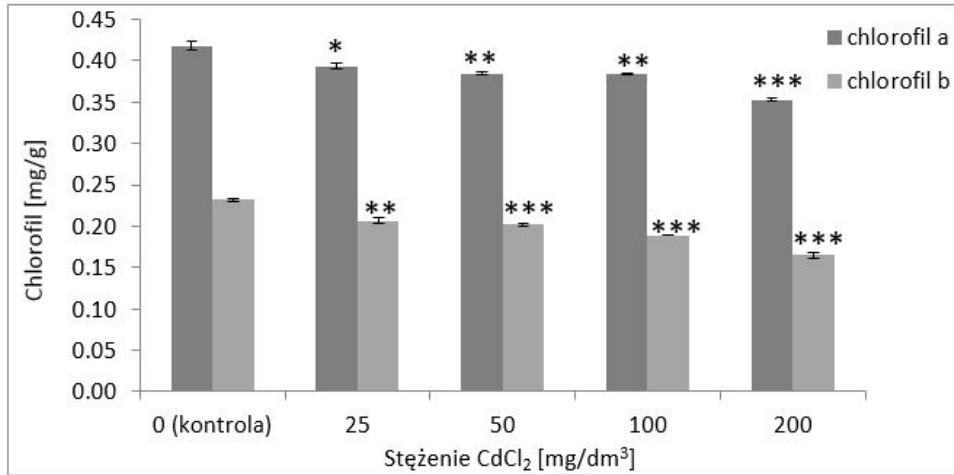


Rys. 1. Zawartość białka w liściach pieprzycy po zastosowaniu soli kadmu (wykres przedstawia średnią  $\pm$  odchylenie standardowe), \*\*\* - poziom istotności  $p < 0,001$  (test Studenta)

Fig. 1. The protein content in the leaves of garden cress after use of cadmium salt (graph represents the mean  $\pm$  standard deviation), \*\*\* - significance level  $p < 0.001$  (Student's test)

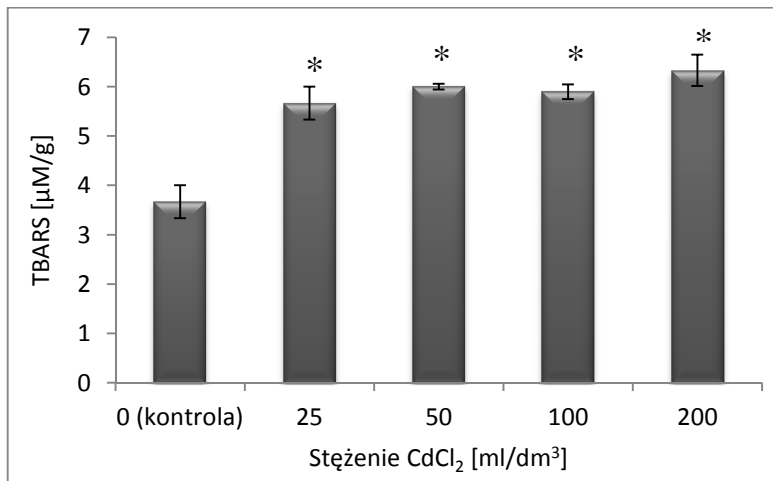
W próbach poddanych działaniu największego stężenia jonów kadmu (200 mg/dm<sup>3</sup>) odnotowano najniższe stężenie białka ( $500,72 \pm 1,52 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ ), przy stężeniu kadmu od 25-100 mg/dm<sup>3</sup> nie wykazano istotnej statystycznej różnicy między kontrolą a badanymi próbkami.

Zastosowanie roztworów kadmu podczas przedposiewowego moczenia nasion niekorzystnie wpływało na syntezę chlorofilu *a* i *b* (rys. 2).



Rys. 2. Zawartość chlorofilu w liściach pieprzycy siewnej po zastosowaniu soli kadmu: \* - poziom istotności  $p < 0,05$  (test Studenta), \*\* - poziom istotności  $p < 0,01$  (test Studenta), \*\*\* - poziom istotności  $p < 0,001$  (test Studenta)

Fig. 2. The chlorophyll content in leaves of garden cress after use of cadmium salt: \* - significance level  $p < 0.05$  (Student's test), \*\* - significance level  $p < 0.01$  (Student's test), \*\*\* - significance level  $p < 0.001$  (Student's test)



Rys. 3. Zawartość produktów peroksydacji lipidów (TBARS) w liściach pieprzycy siewnej po zastosowaniu soli kadmu, \* - poziom istotności  $p < 0,05$  (test Studenta)

Fig. 3. The lipid peroxidation products (TBARS) in leaves of garden cress after use of cadmium salt, \* - significance level of  $p < 0.05$  (Student's test)

Wyniki badań wykazują istotne statystycznie ( $p < 0,001$ ) obniżenie zawartości zarówno chlorofilu *a*, jak i *b*, jednak wzrost stosunku pomiędzy *a/b* wraz ze zwiększeniem stężenia kadmu wskazuje na większe hamowanie syntezy chlorofilu *b*.

Wiadomo, że sole metali ciężkich mogą inicjować procesy wolnorodnikowe w roślinach i innych obiektach biologicznych. Te procesy indukują zaburzenie metabolizmu komórkowego, m.in. równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej, co skutkuje zmianami w strukturze cząsteczek biologicznych - białek, lipidów, węglowodanów i kwasów nukleinowych. Uszkodzenia oksydacyjne wyrażają się poprzez peroksydację lipidów oraz uratę integralności błony komórkowej [7, 9, 22]. Analizując proces peroksydacji lipidów pod wpływem traktowania nasion różnymi stężeniami soli kadmu, zauważono, że zawartość TBARS w liściach jest znacznie wyższa w próbach badanych w porównaniu z kontrolą i wzrastała wraz ze stężeniem  $\text{CdCl}_2$  (rys. 3).

Peroksydaza glutationowa (POX) (E.C.1.11.1.9.) należy do tak zwanej „enzymatycznej triady”, zabezpieczającej komórkę przez procesami wolnorodnikowymi. W następnym etapie badań oceniano zmianę aktywności peroksydazy w liściach pieprzycy siewnej pod wpływem jonów kadmu. Miarą aktywności peroksydazy była zmiana szybkości procesu enzymatycznego. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 1.

Aktywność peroksydazy w liściach *Lepidium sativum* po zastosowaniu soli kadmu

Tabela 1

Peroxidase activity in the leaves of *Lepidium sativum* after use of cadmium salt

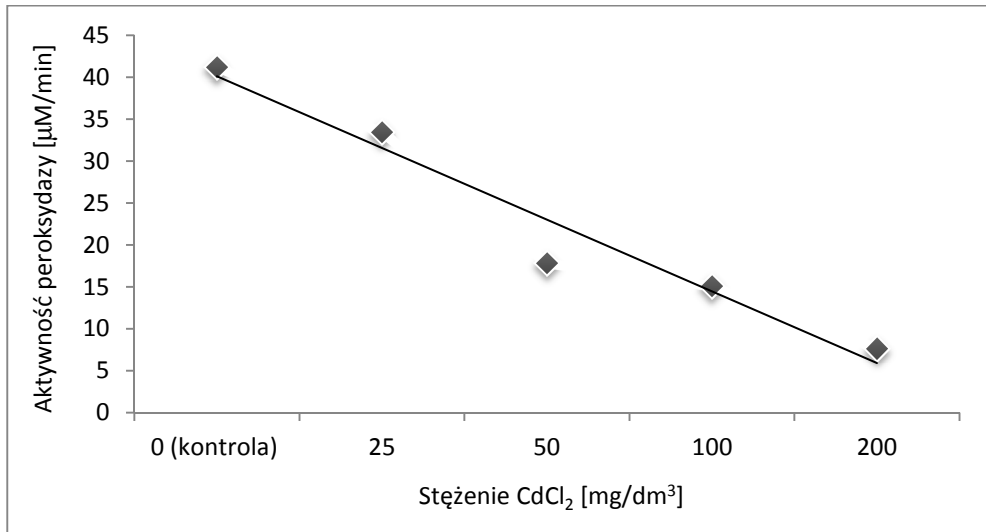
Table 1

Próba	V [ $\mu\text{M}/\text{min}$ ]
kontrola	$41,16 \pm 0,72$
kadm $25 \text{ mg}/\text{dm}^3$	$33,39 \pm 0,61$
kadm $50 \text{ mg}/\text{dm}^3$	$17,80 \pm 1,76$
kadm $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$	$15,04 \pm 0,49$
kadm $200 \text{ mg}/\text{dm}^3$	$7,60 \pm 0,14$

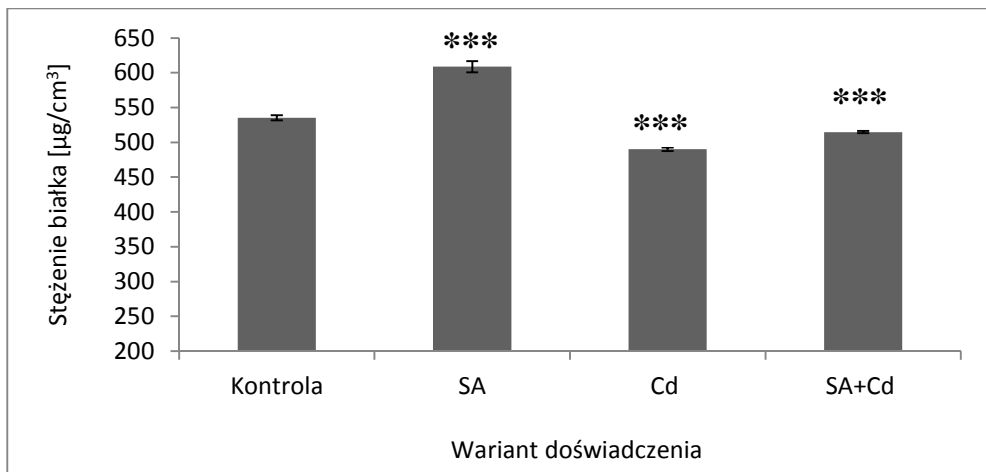
Z danych zawartych w tabeli 1 wynika, że jony kadmu powodują inhibicję badanych procesów enzymatycznych. Analiza statystyczna danych wykazała istotny wpływ jonów kadmu na szybkość procesu katalizowanego przez peroksydazę. Przy najwyższej zastosowanej dawce kadmu aktywność enzymu spada 5-krotnie w stosunku do próby kontrolnej. Z analizy wariancji jednoczynnikowej wynika, że siła wpływu badanego czynnika wynosi 97%. Zależność zmiany szybkości procesu enzymatycznego prowadzonego przez peroksydazę od stężenia stosowanego kadmu jest wprost liniowa (rys. 4).

Otrzymane wyniki badań pozwoliły na przeprowadzenie kolejnych wariantów doświadczenia - oceny przeciwstresowego efektu kwasu salicylowego. Jedynie kadm w stężeniu  $200 \text{ mg}/\text{dm}^3$  wykazał istotne statystycznie zmiany w procesach metabolicznych roślin, dlatego dalej ocenie poddano tylko wzajemne oddziaływanie SA w stężeniu  $1 \text{ g}/\text{dm}^3$  i kadmu  $200 \text{ mg}/\text{dm}^3$ .

Traktowanie nasion SA powodowało stymulację procesów kiełkowania i wzrostu siewek w porównaniu do prób, których nasiona moczo w wodzie i roztworach  $\text{CdCl}_2$ , co może być związane z szybkim procesem kumulacji SA w nasionach [16, 17].



Rys. 4. Zależność szybkości procesu katalizowanego przez peroksydazę od stężenia zastosowanej soli kadmu  
 Fig. 4. Speed ratio process catalyzed by peroxidase in the according to concentration of the cadmium salt



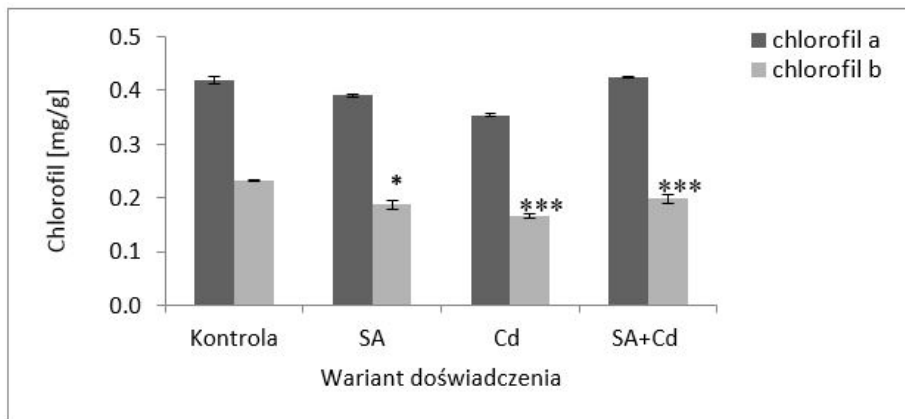
Rys. 5. Stężenie białka w liściach pieprzycy po zastosowaniu kwasu salicylowego (SA) i kadmu (Cd),  
 \*\*\* - poziom istotności  $p < 0,001$  (test Studenta)

Fig. 5. The protein concentration in the leaf of garden cress after use of salicylic acid (SA) and cadmium (Cd),  
 \*\*\* - significance level  $p < 0.001$  (Student' test)

SA powodował wzrost ilości białka w porównaniu z kontrolą ( $p \leq 0,001$ ), jednak wstępne traktowanie nasion roztworem kwasu salicylowego poprzedzające moczenie w roztworze kadmu nie wykazało istotnego wpływu na dany parametr. Stężenie białka

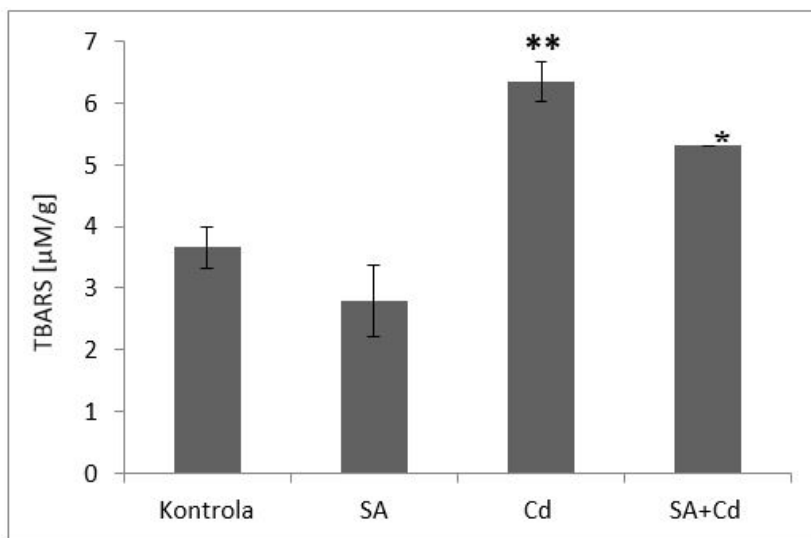
było niższe niż w próbie kontrolnej, ale jednocześnie statystycznie wiarygodnie wyższe po zastosowaniu tylko kadmu (rys. 5).

Kwas salicylowy wpłynął również na zawartość w liściach chlorofilu (rys. 6).



Rys. 6. Stężenie chlorofilu w liściach pieprzycy po zastosowaniu kwasu salicylowego (SA) i kadmu (Cd): \* - poziom istotności  $p < 0,05$ , \*\*\* - poziom istotności  $p < 0,001$

Fig. 6. The chlorophyll concentration in the leaf of garden cress after use of salicylic acid (SA) and cadmium (Cd): \* - significance level  $p < 0.05$ , \*\*\* - significance level  $p < 0.001$



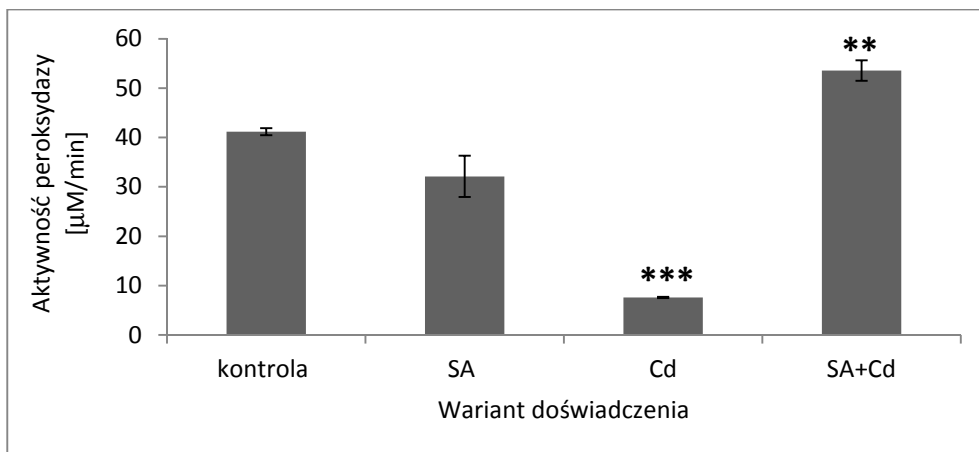
Rys. 7. Zawartość reaktywnych produktów peroksydacji lipidów (TBARS) w liściach pieprzycy siewnej po zastosowaniu kwasu salicylowego (SA) i kadmu (Cd): \* - poziom istotności  $p < 0,05$ , \*\* - poziom istotności  $p < 0,01$

Fig. 7. The lipid peroxidation products (TBARS) in the leaf of garden cress after use of salicylic acid (SA) and cadmium (Cd): \* - significance level  $p < 0.05$ , \*\* - significance level  $p < 0.001$

Średnia zawartość chlorofilu *a* w próbie poddanej działaniu SA była analogiczna do ilości, którą zawierała próba kontrolna, jednak ilość chlorofilu *b* nieznacznie spadła ( $p \leq 0,05$ ). W stosunku do zawartości chlorofilu po traktowaniu nasion kadmem w stężeniu  $200 \text{ mg/dm}^3$  SA skutecznie znosi wpływ kadmu, aktywując syntezę chlorofilu *a* i *b* (rys. 6).

Kwas salicylowy nie wpłynął na proces peroksydacji lipidów w porównaniu z próbą kontrolną. Obniżenie zawartości TBARS w liściach pod wpływem SA (rys. 7) było nieistotne statystycznie. Próba poddana działaniu kwasu salicylowego, a następnie kadmu wykazuje statystycznie wiarygodny wzrost stężenia reaktywnych produktów z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w stosunku do kontroli i SA, jednak istotnie obniża poziom w porównaniu z nasionami potraktowanych kadmem.

Badanie aktywności peroksydazy po działaniu SA nie wykazało istotnej różnicy w porównaniu z kontrolą (rys. 8). Próba poddana działaniu SA, a następnie kadmu wykazuje aktywność peroksydazy na wysokim poziomie. Otrzymany wynik świadczy o tym, że kwas salicylowy zwiększył aktywność enzymu po zatruciu nasion roztworem kadmu.



Rys. 8. Aktywność peroksydazy w liściach *Lepidium sativum* po zastosowaniu kwasu salicylowego (SA) i kadmu (Cd): \*\* - poziom istotności  $p < 0,01$ , \*\*\* - poziom istotności  $p < 0,001$

Fig. 8. Peroxidase activity in the leaves of *Lepidium sativum* after use of salicylic acid (SA) and cadmium (Cd): \*\* - significance level  $p < 0.01$ , \*\*\* - significance level  $p < 0.001$

### Podsumowanie i wnioski

W prezentowanych badaniach oceniano wpływ przedposiewowego moczenia nasion w roztworze kwasu salicylowego na stres metaboliczny u pieprzycy siewnej *Lepidium sativum* wywołany wzrastającymi stężeniami kadmu. Badania przeprowadzono w trzech wariantach; w pierwszym nasiona pieprzycy siewnej moczone jedynie w roztworach chlorku kadmu, w drugim tylko w roztworze SA, natomiast w trzecim zastosowano moczenie zarówno w roztworze SA, jak i w roztworze chlorku kadmu.

Wyniki badań ujawniły, że kadm, zgodnie z oczekiwaniami, negatywnie oddziaływał na aktywność metaboliczną u pieprzycy siewnej. Stwierdzono istotne statystycznie



zmniejszenie w liściach pieprzycy ilości białka, chlorofilu *a* i *b*, a także spadek aktywności peroksydazy i jednocześnie wzrost produktów peroksydacji lipidów.

Przeprowadzone badania potwierdziły wpływ kwasu salicylowego na zwiększenie odporności na stres oksydacyjny u pieprzycy siewnej wywołany kadmem. Zastosowanie SA przed moczeniem nasion w roztworze kadmu istotnie statystycznie zwiększyło stężenie białka w liściach w porównaniu do prób traktowanych wyłącznie kadmem, choć nie znosiło całkowicie negatywnego wpływu kadmu. SA natomiast skutecznie znosił ujemny wpływ kadmu na zawartość chlorofilu *a* i *b*. Kwas salicylowy chronił również rośliny przed stresem oksydacyjnym wywołanym kadmem. Zwiększał istotnie statystycznie aktywność peroksydazy, pierwszego mechanizmu obronnego komórek przez czynnikami stresogennymi, choć zastosowana dawka ( $1 \text{ g/dm}^3$ ) nie była w stanie całkowicie zahamować procesu peroksydacji lipidów.

## Literatura

- [1] Kaczyńska A, Zajączkowski M, Grzybiak M. Toksyczny wpływ kadmu na rośliny i człowieka. *Ann Acad Med Gedan.* 2015;45:65-70. [www.ptfarm.pl/pub/File/Farmacja%20Polska/2010/04-2010/02%20%20Kadm.pdf](http://www.ptfarm.pl/pub/File/Farmacja%20Polska/2010/04-2010/02%20%20Kadm.pdf)
- [2] Gellego SM, Rena LB, Barcia RA, Azpilicueta CE, Iannone MF, Rosales MD. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plant: Insight into regulatory mechanism. *Environ Exp Bot.* 2012;83:33-46. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2012.04.006.
- [3] Jadia CD, Fulekar MH. Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *Afr J Biotechnol.* 2009;8:921-928. [http://www.academicjournals.org/article/article1379770637\\_Jadia%20and%20Fulekar.pdf](http://www.academicjournals.org/article/article1379770637_Jadia%20and%20Fulekar.pdf).
- [4] Alterio V, Langella E, De Simone G, Monti SM. Cadmium-containing carbonic anhydrase CDCA1 in marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Mar Drugs.* 2015;13:1688-1697. DOI: 10.3390/md13041688.
- [5] Lane TW, Saito MA, George GN, Pickering IJ, Prince RC, Morel FM. Biochemistry: a cadmium enzyme from a marine diatom. *Nature.* 2005;5:435-442. DOI: 10.1038/435042a.
- [6] Smolders E. Cadmium uptake in plants. *Int J Occup Med Environ Health.* 2001;14:177-183. [www.imp.lodz.pl/upload/oficyna/artykuly/.../Smol10-02-01.pdf](http://www.imp.lodz.pl/upload/oficyna/artykuly/.../Smol10-02-01.pdf).
- [7] Gill SS, Khan NA, Tuteja N. Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum* L.). *Plant Sci.* 2012;182:112-120. DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.04.018.
- [8] Xu Q, Min H, Cai S, Fu Y, Sha S, Xie K, et al. Subcellular distribution and toxicity of cadmium in *Potamogeton crispus* L. *Chemosphere.* 2012;89:114-120. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.04.046.
- [9] Monteiro C, Santos C, Pinho S, Oliveira H, Pedrosa T. Cadmium-induced cyto- and genotoxicity are organ-dependent in lettuce. *Chem Res Toxicol.* 2012;25:1423-1434. DOI: 10.1021/tx300039t.
- [10] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.* 2004;9:490-498. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>.
- [11] Foreman J, Demidchik V, Bothwell JHF. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature.* 2003;422:442-446. DOI: 10.1038/nature01485.
- [12] Kwak JM, Nguyen V, Schroeder JI. The role of reactive oxygen species in hormonal responses. *Plant Physiol.* 2006;141:323-329. DOI: 10.1104/pp.106.079004.
- [13] Jones MA, Raymond MJ, Yang Z, Smirnov N. NADPH oxidase-dependent reactive oxygen species formation required for root hair growth depends on ROP GTPase. *J Exp Bot.* 2007;58:1261-1270. DOI: 10.1093/jxb/erl279.
- [14] Potocky M, Jones MA, Bezvoda R, Smirnov N, Zarsky V. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase are involved in pollen tube growth. *New Phytol.* 2007;174:742-751. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2007.02042.x.
- [15] Mullineaux PM, Rausch T. Glutathione, photosynthesis and the redox regulation of stress-responsive gene expression. *Photosynth Res.* 2005;86:459-474. DOI: 10.1007/s11120-005-8811-8.
- [16] Mei L, Daud MK, Ullah N, Ali S, Khan M, Malik Z, et al. Pretreatment with salicylic acid and ascorbic acid significantly mitigate oxidative stress induced by copper in cotton genotypes. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2015;22:9922-9931. DOI: 10.1007/s11356-015-4075-9.

- [17] Zhang Y, Xu S, Yang S, Chen Y. Salicylic acid alleviates cadmium-induced inhibition of growth and photosynthesis through upregulating antioxidant defense system in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.). *Protoplasma*. 2015;252:911-24. DOI: 10.1007/s00709-014-0732-y.
- [18] Dulley JR, Grieve PA. A simple technique for eliminating interference by detergents in the Lowry methods of protein determination. *Anal Biochem*. 1975;64:136-141. DOI: 10.1016/0003-2697(75)90415-7.
- [19] Arnon DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*. 1949;24:1-5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC437905/pdf/plntphys00263-0011.pdf>.
- [20] Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*. 1968;125:189-198. DOI: 10.1016/0003-9861(68)90654-1.
- [21] Smiri M, Jelali N, Ghoul JE. Role for plant peroxidase in cadmium chelation. *J Plant Interact*. 2013;8:255-262. DOI: 10.1080/17429145.2012.711489.
- [22] Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic Bio Med*. 1995;18:321-336. DOI: 10.1016/0891-5849(94)00159-H.

## EFFECT OF CADMIUM AND SALICYLIC ACID ON METABOLIC ACTIVITY IN *Lepidium sativum* L.

Chair of Biotechnology and Molecular Biology, University of Opole

**Abstract:** Cadmium (Cd) is a heavy metal, which due to human activities has become a major environmental pollution. It has high toxicity for all living organisms. The symptoms of toxicity of cadmium in plants are primarily morphological changes, reduction of photosynthesis and oxidative stress. The effect of increasing the stress resistance can be obtained using a variety of exogenous compounds. Such compounds include salicylic acid (SA). The aim of this study is to evaluate the effect of salicylic acid on metabolic stress with garden cress *Lepidium sativum* caused by increasing concentrations of cadmium. In the leaves of garden cress were determined the protein and the chlorophyll concentration, the amount of lipid peroxidation products (TBARS) and peroxidase activity, one of the enzymes characteristic for oxidative stress. The results revealed that the cadmium concentration of 200 mg/dm<sup>3</sup>, as expected, adversely affected the growth and development of garden cress. At the same time our studies confirmed the effect of salicylic acid to increase the resistance to oxidative stress in garden cress caused by cadmium. The use of SA before soaking the seeds in a solution of cadmium increased concentration of the protein in the leaves as compared to samples treated only cadmium but could not be achieved as the concentrations in the control. On the other hand SA effectively endured negative effect of cadmium on the content of chlorophyll *a* and *b*. In addition, SA increased peroxidase activity, although the dose (1 g/dm<sup>3</sup>) was not able to completely stop the process of lipid peroxidation.

**Keywords:** cadmium, salicylic acid, *Lepidium sativum*