

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 581.1:631.811.98:546.47:546.56

**ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У РОСЛИН  
СОНЯШНИКУ І РІПАКУ ЗА ДІЇ ТРЕПТОЛЕМУ В УМОВАХ ТОКСИЧНОГО  
ВПЛИВУ ІОНІВ ЦИНКУ ТА МІДІ**

**В. Бакун, О. Пацула, О. Терек**

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

Вивчено інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів у пагонах і коренях рослин ріпаку (*Brassica napus*) та соняшнику (*Helianthus annuus*) за умов токсичного впливу іонів важких металів ( $Zn^{2+}$  і  $Cu^{2+}$ ) та дії регулятора росту нового покоління – трептолему. Виявлено активацію перекисного окиснення ліпідів у 7- та 14-добових рослин ріпаку і соняшнику, які росли на розчинах  $ZnSO_4$  та  $CuSO_4$ . Виявлено, що внаслідок дії трептолему вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у проростках знижується. Це дає змогу використовувати трептолем як ефективний протектор рослинного організму від токсичного впливу іонів  $Zn^{2+}$  та  $Cu^{2+}$ .

*Ключові слова:* перекисне окиснення ліпідів, іони  $Zn^{2+}$  та  $Cu^{2+}$ , трептолем, ріпак, соняшник.

Серед найагресивніших забруднювачів довкілля, які згубно впливають на біосферу, є іони важких металів. Вони можуть істотно знижувати природну стійкість біологічних об'єктів до біотичних і абіотичних чинників середовища. Системна токсична дія іонів важких металів зростає внаслідок розширення сфери господарської діяльності й посилення антропогенного тиску [9].

У рослинному організмі одним із можливих компонентів швидкої реакції на стрес є активація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Баланс ПОЛ у клітині підтримується на постійному рівні завдяки існуванню багаторівневої антиоксидантної захисної системи. Тому збалансованість між обома частинами цієї системи – перекисним окисненням, з одного боку, й антиоксидантною активністю, з іншого, – є важливою умовою для збереження нормальної життєдіяльності клітини. Вважається, що зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги є однією з перших неспецифічних ланок у розвитку стрес-реакції та слугує, згідно з В. А. Барабой [1], тією зміною внутрішнього середовища рослинної клітини, яка запускає інші механізми захисту.

Загальною реакцією-відповіддю рослин на дію таких важких металів, як свинець, кадмій, мідь, цинк і хром, є посилене утворення й нагромадження активних форм кисню (АФК) і активація процесів ПОЛ [15].

Одним із механізмів дії активних форм кисню на рослинні тканини може бути активація ПОЛ, насамперед ненасичених жирних кислот плазматичної мембрани [2]. Зростання інтенсивності ПОЛ може спричинювати розвиток пошкоджень клітин. Водночас останніми роками з'являються відомості про сигнальні функції як АФК, так і продуктів ПОЛ, тобто у певних межах посилення утворення АФК і активація ПОЛ можуть бути фізіологічно важливими процесами [5].

Актуальним є пошук засобів для підвищення толерантності рослин до дії високих концентрацій важких металів. Слід зазначити, що регулятори росту підвищують стійкість

рослин до багатьох несприятливих факторів. Останніми роками в Україні та за кордоном створено регулятори нового покоління, які за особливостями впливу на рослинні організми, ефективністю, екологічними й технологічними показниками принципово відрізняються від регуляторів минулих років. Серед них найбільшої уваги заслуговують препарати, створені в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України на основі N-окиснених піридинових сполук [8]. Одним із таких сучасних регуляторів є трептолем: комплекс 2,6-диметилпіридин-1-оксид з бурштиною кислотою – 50 г/л та Емістиму С – 1,0г/л (ІБОНХ НАНУ, МНТЦ «Агробіотех», ЗАТ «Високий урожай»). Він рекомендований до використання на рослинах соняшнику та ріпаку для допосівної обробки насіння й обприскування посівів [3].

Основним завданням нашої роботи було визначити вміст малонового діальдегіду (МДА) (як одного з характерних молекулярних продуктів ПОЛ) у коренях і пагонах рослин ріпаку та соняшнику, вирощених на середовищах із різною концентрацією цинку та міді та за умов сумісної дії іонів важких металів і трептолему.

Досліди проводили на проростках ріпаку (*Brassica napus*) сорту Микитинецький та соняшнику (*Helianthus annuus*) сорту Еліт. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженому трептолемом у концентрації 1 мл/л фільтрувальному папері. Після цього проростки пересаджували на розчини, які містили: цинк ( $10^{-3}\text{M}$  і  $10^{-4}\text{M}$ ) і купрум ( $10^{-5}\text{M}$  і  $10^{-6}\text{M}$ ) сульфати й поживне середовище Холланда-Арнона. Контролем слугували рослини, вирощені на поживному середовищі Холланда-Арнона. Через 7 і 14 діб у дослідних і контрольних рослин визначали інтенсивність перекисного окиснення ліпідів [6]. Даний метод базується на взаємодії малонового діальдегіду з 2-тіобарбітуровою кислотою, в результаті якої утворюється забарвлений продукт із максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм. Дані статистично опрацьовували, визначаючи відхилення від середнього.

Участь активації ПОЛ у механізмі загального синдрому адаптації – стресу – як первинного і вторинного медіатора стресу демонструє важливість кількісного визначення параметрів активації ПОЛ для своєчасного й ефективного застосування антистресових заходів [12].

Ініціаторами ПОЛ є вільні радикали – нормальні метаболіти рослинних клітин, що утворюються внаслідок функціонування практично всіх клітинних систем, зокрема, електронно-транспортних ланцюгів у хлоропластах, мітохондріях, ендоплазматичному ретикулумі, ядерних мембранах, а також у ферментативних оксигеназних реакціях, які каталізують пероксидаза, ксантиноксидаза, ліпоксигеназа, НАДФ-оксидаза тощо [13, 14]. У звичайних умовах росту й розвитку рослин концентрація вільних радикалів та ініційоване ними ПОЛ перебувають на певному низькому і більш-менш постійному рівні, що є безпечним для клітин і всього організму. За екстремальних умов відбувається нагромадження вільних радикалів, унаслідок чого зростає й інтенсивність процесів ПОЛ у клітинах.

У наших дослідженнях виявлено активізацію реакцій ПОЛ за умов токсичного впливу іонів цинку та міді. Зазначимо, що іони міді та цинку є життєво необхідними елементами для рослин. Водночас при високих концентраціях цих металів у навколишньому середовищі спостерігаються різні порушення росту й розвитку рослин, спричинені отруєнням цими металами. Результати наших досліджень свідчать, що після семи діб росту у проростках соняшнику з підвищенням концентрації іонів цинку та міді в поживному середовищі збільшується концентрація малонового діальдегіду (рис. 1).

Найвищий вміст МДА спостерігався при найвищій концентрації важкого металу в розчині –  $10^{-3}\text{M}$  Zn та  $10^{-5}\text{M}$  Cu. Це свідчить про те, що за екстремальних умов відбувається нагромадження вільних радикалів, унаслідок чого зростає інтенсивність ПОЛ у клітинах. Інтенсивність утворення МДА може слугувати показником активності окислювальних

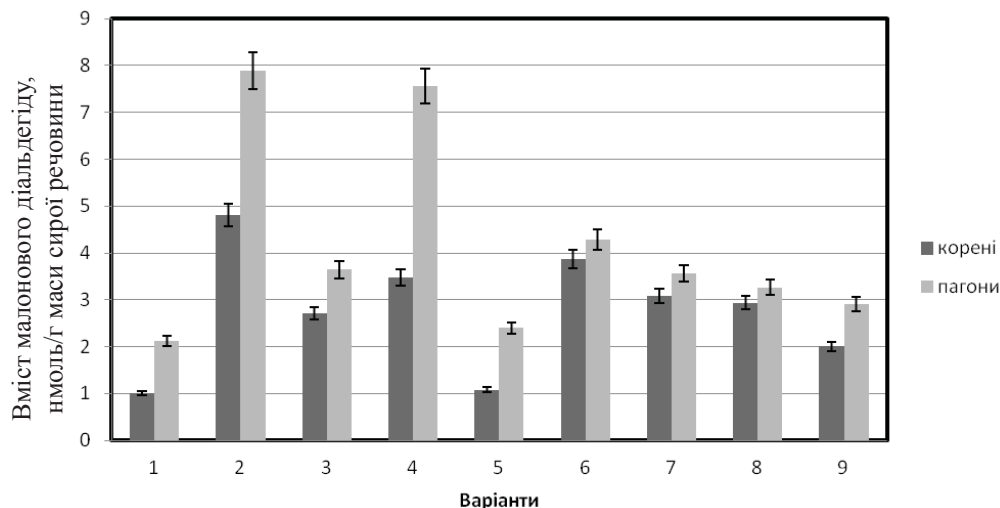


Рис. 1. Вплив іонів важких металів і трептолему на вміст малонового діальдегіду у 7-добових рослин соняшнику: 1 – поживне середовище Холланда-Арнона (контроль); 2 –  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ ; 3 –  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ ; 4 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ ; 5 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ ; 6 –  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$ ; 7 –  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$ ; 8 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$ ; 9 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$ . процесів, обумовлених кисневими радикалами. У рослин, які росли на розчині  $ZnSO_4$  з концентрацією  $10^{-3}$ М, вміст МДА був найвищий порівняно з контролем, а також порівняно з 14-добовими рослинами. Це може бути свідченням токсичного прояву високих концентрацій важкого металу на рослини соняшнику.

За сумісної дії трептолему й іонів цинку та міді вміст МДА помітно знижувався в усіх варіантах як у пагонах, так і в коренях 7-добових проростків соняшнику. У варіантах 1 мл/л трептолему +  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ , 1 мл/л трептолему +  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$  і 1 мл/л трептолему +  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$  виявлено, що вміст МДА зменшувався порівняно з варіантами з важкими металами, а у варіанті 1 мл/л трептолему +  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$  перебував майже на рівні з контролем.

У 14-добових рослин соняшнику виявлена подібна закономірність (рис. 2).

Вміст малонового діальдегіду як у коренях, так і у пагонах зростав порівняно з контрольними рослинами на всіх концентраціях  $ZnSO_4$  і  $CuSO_4$ .

У варіантах 1 мл/л трептолему +  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ , 1 мл/л трептолему +  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ , 1 мл/л трептолему +  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$  і 1 мл/л трептолему +  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$  у тканинах кореня та пагона вміст МДА зменшувався порівняно з рослинами, які були вирощені на середовищі з різними концентраціями іонів цинку та міді. Порівняно з контролем у цих рослин виявлено підвищення рівня МДА, але меншою мірою, ніж на варіантах  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ ,  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ ,  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$  і  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$ .

Слід зазначити, що вміст МДА зростав у пагонах порівняно з коренями в усіх досліджуваних концентраціях. Це пояснюється тим, що хлоропласти, які містяться у листках, суттєво впливають на розвиток ПОЛ, оскільки містять велику кількість ненасичених жирних кислот у мембранах тилакоїдів, а також є джерелом продукування активних форм кисню. Ці сполуки утворюються не лише за дії на рослини стресових факторів, а й у результаті процесів, які відбуваються в клітинах у нормі, зокрема в результаті роботи електрон-транспортного ланцюга фотосинтезу [4, 12].

У рослин ріпаку ми виявили зміни, подібні до тих, що були у рослин соняшнику (рис. 3, 4).

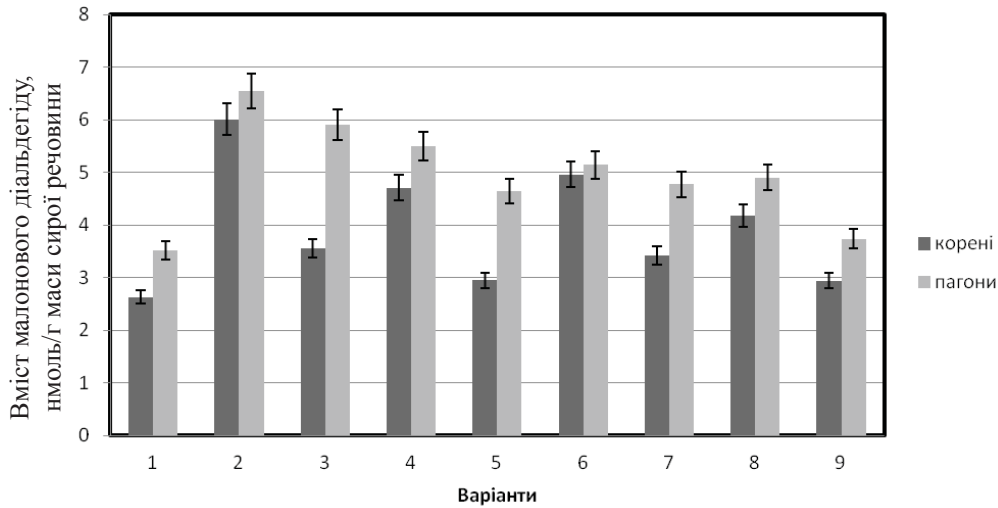


Рис. 2. Вплив іонів важких металів та трептолему на вміст малонового діальдегіду у 14-добових рослин соняшнику: 1 – поживне середовище Холланда-Арнона (контроль); 2 –  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ ; 3 –  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ ; 4 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ ; 5 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ ; 6 –  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$ ; 7 –  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$ ; 8 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$ ; 9 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$ .

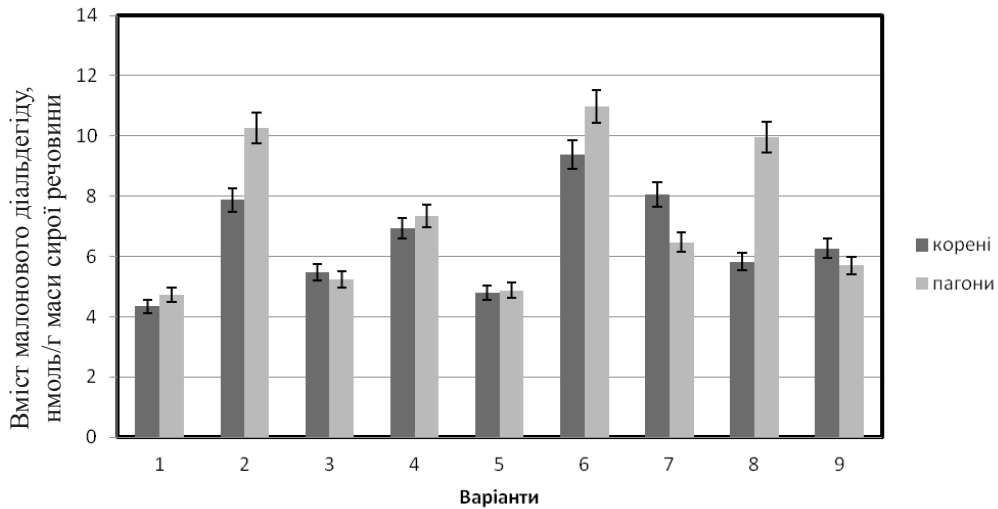


Рис. 3. Вміст малонового діальдегіду в органах 7-добових рослин ріпаку за дії важких металів і трептолему: 1 – поживне середовище Холланда-Арнона (контроль); 2 –  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ ; 3 –  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ ; 4 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ ; 5 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ ; 6 –  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$ ; 7 –  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$ ; 8 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$ ; 9 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$ .

У варіантах  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$  та  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$  концентрація МДА у коренях ріпаку була в 1,5 та 2 рази вища порівняно з контролем. У зазначених варіантах у пагонах вміст даного метаболіту був відповідно у 2 і 2,5 рази вищим порівняно з контролем. Застосування регулятора росту трептолему за умов дії іонів цинку та міді сприяло деякому зниженню

інтенсивності ПОЛ. У варіантах 1 мл/л трептолему +  $10^{-4}$ М  $Zn(SO_4)_2$  та 1 мл/л трептолему +  $10^{-6}$ М  $Cu(SO_4)_2$  рівень малонового діальдегіду перебував майже на рівні з контролем.

Відомо, що надлишок важких металів у рослинних клітинах посилює перекисне окиснення ліпідів. Утворення перекисів спричинює розриви молекул ДНК, виділення з клітин катіонів  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ , унаслідок пошкодження плазматичної та вакуолярних мембран. Ці порушення інгібують біосинтез хлорофілу, фотосинтетичну та дихальну активність і призводять до руйнування хлоропластів і мітохондрій. Активація ПОЛ є неспецифічною реакцією рослинних організмів у відповідь на вплив несприятливих біотичних і абіотичних факторів різноманітного походження [12].

Аналізуючи вплив іонів цинку та міді на вміст МДА в органах рослин ріпаку на 14-ту добу росту, виявили, що важкі метали проявляють стимулювальну дію у тканинах як коренів, так і пагонів (рис. 4).

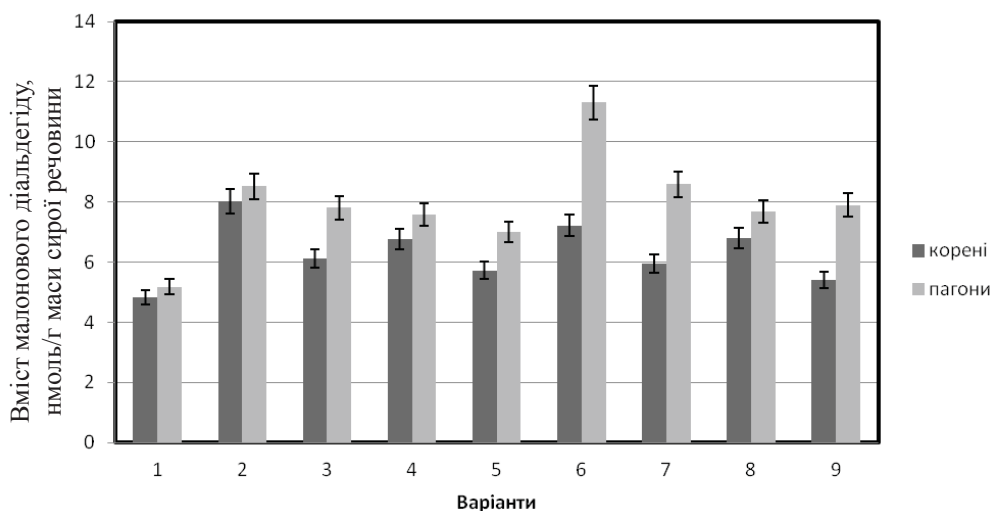


Рис. 4. Вміст малонового діальдегіду в органах 14-добових рослин ріпаку за дії важких металів і трептолему: 1 – поживне середовище Холланда-Арнона (контроль); 2 –  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ ; 3 –  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ ; 4 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-3}$ М  $ZnSO_4$ ; 5 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-4}$ М  $ZnSO_4$ ; 6 –  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$ ; 7 –  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$ ; 8 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$ ; 9 – 1 мл/л трептолему +  $10^{-6}$ М  $CuSO_4$ .

Результати наших досліджень свідчать, що важкі метали у високих концентраціях викликають порушення метаболічних процесів в органах рослин. Перш за все це стосується нагромадження продуктів ПОЛ. Активація ПОЛ – це загальна метаболічна ланка тиску на рослини різноманітних екстремальних факторів, які реалізують стрес-системи [1]. Зокрема, у рослин ріпаку, вирощених на варіанті  $10^{-5}$ М  $CuSO_4$ , відзначено зростання рівня МДА у пагонах удвічі порівняно з контрольними рослинами, а регулятор росту трептолем призводить до зниження вмісту малонового діальдегіду у тканинах рослин ріпаку.

Отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників. Зокрема, виявлено зростання вмісту малонового діальдегіду за дії іонів кадмію у проростках гороху [7] та вплив емістиму С на інтенсивність ПОЛ клітинних мембран у рослин сої, вирощених за умов гіпо- і гіпертермії [11] та дії токсичних іонів свинцю й кадмію [12].

Пригнічення ростових процесів можна пояснити тим, що наслідком підсилення ПОЛ може бути поява дефектів у мембранах клітин і мітохондрій як результат окиснення

тіолових (сульфгідрильних) груп мембранних білків. Під впливом різниці потенціалів на мембранах через такі пори до клітини надходять іони натрію, а до мітохондрій – іони калію. Як наслідок відбувається підвищення осмотичного тиску і в клітинах, і в мітохондріях та їхнє набрякання. Це призводить до ще більшого uszkodження мембран, зумовлює інактивацію іонотранспортних ферментів, зокрема  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аз, в активних центрах яких є тіолові групи [11]. Інактивація  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-ази уповільнює “вихід” іонів кальцію з клітини, що супроводжується збільшенням їхньої концентрації та пошкодженням клітини. Іншим наслідком підсилення ПОЛ є безпосереднє підвищення іонної проникності ліпідного шару мембран для іонів водню та кальцію, що призводить до втрати мітохондріями здатності синтезувати АТФ, унаслідок чого клітина опиняється в умовах “енергетичної” кризи. Одночасно в цитоплазмі є іони кальцію, що ушкоджують клітинні структури [10].

Отже, виявлені зміни вмісту малонового діальдегіду у рослин соняшнику та ріпаку під впливом трептолему за умов дії іонів цинку і міді свідчать, що протекторна дія досліджуваного регулятора росту здійснюється шляхом впливу на інтенсивність процесів ПОЛ мембран, імовірно, через збереження антиоксидантно-прооксидантної рівноваги у клітинах.

1. Барабой В. А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. 1991. Т. 11. Вып. 6. С. 923–932.
2. Гамалей И. А., Клюбин И. В. Перекись водорода как сигнальная молекула // Цитология. 1996. Т. 38. № 12. С. 1233–1247.
3. Грицаєнко З. М., Пономаренко С. П., Карпенко В. П., Леонтьюк І. Б. Біологічно активні речовини в рослинництві. К.: ЗАТ «НІЧЛАВА», 2008. 352 с.
4. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / Под ред Е.Л. Кордюм. К.: Наук. думка, 2003. 277 с.
5. Колупаєв Ю. Є., Карпець Ю. В. Кальційзалежний вплив пероксиду водню на теплостійкість колеоптилів *Triticum aestivum* L. // Укр. ботан. журн. 2007. Т. 64. № 5. С. 713–719.
6. Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. С. 97–99.
7. Платонова А. А., Кастішин С. С. Вміст малонового діальдегіду та активність антиоксидантних ферментів у паростках гороху за дії іонів кадмію // Физиология и биохимия культ. растений. 2000. Т. 32. № 2. С. 146–150.
8. Пономаренко С. П. Регуляторы роста растений на основе N-оксидов производных пиридина (физико-химические свойства и биологическая активность). К.: Техніка, 1999. 270 с.
9. Сергеева Л. С. Ионы тяжелых металлов та клітинна селекція рослин // Физиология и биохимия культ. растений. 2006. Т. 38. №3. С. 197–207.
10. Таран Н. Ю., Оканенко О. А., Бацманова Л. М., Мусієнко М. М. Вторинний оксидний стрес як елемент загальної адаптивної відповіді рослин на дію несприятливих факторів довкілля // Физиология и биохимия культ. растений. 2004. Т. 36. №1. С. 3–12.
11. Терек О., Величко О., Яворська Н. Механізми адаптації проростків сої до стресових умов за дії регуляторів росту емістиму С та агростимуліну // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2006. Вип. 41. С. 132–136.
12. Терек О., Решетило С., Величко О. та ін. Інтенсивність перекисного окислення ліпідів у паростках сої під дією емістиму С в умовах токсичного впливу іонів свинцю та кадмію // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2004. Вип. 37. С. 218–220.
13. Foyer C. H., Lelandais M., Kunert K. J. Photooxidative stress in plants // Plant. Physiol. 1994. Vol. 92. P. 696–717.

14. Mishra A., Choudhuri M. A. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice // Biol. Plantarum. 1999. Vol. 42. N 3. P. 409–415.
15. Panda S. K., Choudhury I., Khan M. H. Heavy metal induced lipid peroxidation affects antioxidants in wheat leaves // Biol. Plant. 2003. Vol. 46. P. 289–294.

Стаття: надійшла до редакції 24.09.10

доопрацьована 14.10.10

прийнята до друку 18.10.10

#### LIPID PEROXIDATION INTENSITY IN RAPE AND SUNFLOWER PLANTS UNDER TREPTOLEM INFLUENCE IN CONDITION OF TOXIC EFFECT OF ZINC AND COPPER IONS

V. Bakun, O. Patsula, O. Terek

Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua

The intensity of lipid peroxidation processes (LP) in the rape (*Brassica napus*) and sunflower (*Helianthus annuus*) shoots and roots in condition of toxic effect of heavy metals ions ( $Zn^{2+}$  and  $Cu^{2+}$ ) and under influence of growth regulator of new generation Treptolem were studied. LP activation in the shoots and roots of 7- and 14-days rape and sunflower plants, which grown on water solutions of  $ZnSO_4$  and  $CuSO_4$  was established. Treptolem could be used as effective antistress factor since as a results of it influence we marked decrease of LP-products content.

*Key words:* lipid peroxidation processes, ions  $Zn^{2+}$  and  $Cu^{2+}$ , Treptolem, rape, sunflower.

#### ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У РАСТЕНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА И РАПСА ПРИ ВЛИЯНИИ ТРЕПТОЛЕМА В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ЦИНКА И МЕДИ

В. Бакун, О. Пацула, О. Терек

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

Изучена интенсивность процессов перекисного окисления липидов в побегах и корнях растений рапса (*Brassica napus*) и подсолнечника (*Helianthus annuus*) в условиях токсического воздействия ионов тяжелых металлов ( $Zn^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ ) и регулятора роста нового поколения – трептолема. Выявлена активация перекисного окисления липидов у 7- и 14-суточных растений рапса и подсолнечника, которые росли на растворах  $ZnSO_4$  и  $CuSO_4$ . Обнаружено, что вследствие воздействия трептолема содержание продуктов перекисного окисления липидов в проростках снижается. Это позволяет использовать трептолем как эффективный протектор растительного организма от токсического воздействия ионов  $Zn^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ .

*Ключевые слова:* перекисное окисление липидов, ионы  $Zn^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ , трептолем, рапс, подсолнечник.