

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 577.175.1: 661.165.6: 581.19: 662.271.4

**ВПЛИВ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ  
РОСЛИН *BETULA PENDULA* ROTH. ТА *PINUS SYLVESTRIS* L.  
НА ПОРОДНИХ ВІДВАЛАХ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ**

**В. Баранов<sup>1\*</sup>, С. Вашук<sup>1</sup>, Л. Карпінєць<sup>1</sup>, С. Бешлей<sup>2</sup>, Р. Соханьчак<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут екології Карпат НАН України

вул. Стефаника, 11, Львів 79000, Україна

e-mail: baranovhwiv@gmail.com

Визначено вплив регуляторів росту рослин – гібереліну, Епіну-екстра, Циркону та Мочевину-К1 на вміст первинних і вторинних продуктів метаболізму (зокрема, водорозчинних білків, пігментів фотосинтезу, розчинних вуглеводів, фенольних сполук) та активність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у хвої *Pinus sylvestris* L. і листках *Betula pendula* Roth., які ростуть на породному відвалі Центральної збагачувальної фабрики Червоноградського гірничопромислового району.

У процесі використання практично всіх регуляторів росту концентрація фотосинтезуючих пігментів, зокрема, хлорофілу *a* та хлорофілу *b*, а також вуглеводів підвищувалась і трохи знижувалась у сосни та берези за дії Мочевину-К. Вміст допоміжних пігментів – каротиноїдів у хвої *Pinus sylvestris* залишався на рівні контролю. Вміст каротиноїдів у листках *Betula pendula* був вищим за обприскування гібереліном (157 %) і Цирконом (172 %).

Вміст водорозчинних білків підвищувався під впливом стимуляторів росту як у *Pinus sylvestris*, так і у *Betula pendula*. У берези найефективніше діяв Мочевин-К1, під час обробки якого кількість білка підвищилася на 37,8 %, порівняно з контролем. У сосни найбільшу кількість білка відзначено у варіанті з використанням Епіну-екстра (118 %).

У листках берези кількість фенольних сполук під дією регуляторів росту залишалася на рівні контролю або знижувалася до 85 % (за обробки ГК), за дії Циркону – до 78 %, а у хвої сосни при цьому рівень вторинних метаболітів трохи перевищував контрольні показники.

У сосни активність перекисного окиснення ліпідів знижували всі регулятори росту, у берези за обробки Епіном-екстра змін щодо ПОЛ не зазначено.

Отримані результати дають змогу рекомендувати нові регулятори росту (Епін-екстра, Циркон і Мочевин-К1) для підвищення толерантності рослин до несприятливих умов середовища існування.

*Ключові слова:* *Pinus sylvestris*, *Betula pendula*, регулятори росту рослин, породні відвали

Проблема рекультивациі техногенно порушених територій, зокрема, відвалів вугільних шахт, утворених у результаті діяльності гірничодобувної промисловості, на сьогодні залишається досить актуальною. Відвал Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ), який розміщений у межах Червоноградського гірничопромислового комплексу, займає площу понад 76 га, а висота його сягає понад 68 м. Субстрат відвалу є крихким і містить значну кількість важких металів (ВМ), він практично позбавлений органічної речовини та має високу водопроникність. Кислотність водних стоків із терикону досить висока – в межах рН 3–4.

Потреба рекультивативії відвалу та його озеленення полягає в пошуку рослин, які могли б адаптуватися до несприятливих умов існування, а також засобів для стимуляції їхнього росту і стійкості [1, 2].

Одними з таких видів рослин можуть бути: сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.) та береза повисла (*Betula pendula* L.), одиничні екземпляри яких трапляються на відвалі. Відомо, однак, що реалізація антистресових програм потребує великих енергетичних витрат рослин, тому актуальним є використання регуляторів росту рослин (PPP), у спектрі фізіологічної дії яких проявляється чітко виражений антистресовий ефект. Вони здатні у вкрай низьких концентраціях регулювати активність метаболічних процесів на високому рівні, індукуючи при цьому стійкість рослин до широкого спектра стресових чинників і підтримуючи в екстремальних умовах їхню високу продуктивність [21].

У нашій роботі як стимулятори росту рослин ми використовували: класичний регулятор росту – гіберелову кислоту (ГК), а також нові регулятори росту – Епін-екстра, Циркон і Мочевин-К1. Епін-екстра – синтетичний брасиностероїд, аналог природного фітогормону, має антистресовий ефект [3, 8, 9, 16], Циркон у рослинах виконує функції імуномодулятора й антистресового адаптогена. Діючою речовиною препарату є суміш гідроксикоричних кислот, одержуваних із рослинної сировини ехінацеї пурпурової. Він виконує антиоксидантну функцію завдяки активації відповідних ферментних систем і компенсує дефіцит природних регуляторів росту [12, 13, 18]. До складу Мочевин-К1 входить суміш органічних кислот трикарбонового циклу в поєднанні з органічним нітрогеном, які виконують одночасно функції добрив і регулятора росту. Препарат посилює ріст кореневої системи, збільшує біомасу рослин і покращує їхню імунну систему [27, 28].

Метою наших досліджень було визначити окремі фізіолого-біохімічні показники в рослинах, які прямо чи опосередковано пов'язані з ростом, розвитком і стійкістю видів до несприятливих умов середовища.

#### Матеріали та методи

Рослини сосни і берези, які росли на відвалі ЦЗФ три роки після їхнього висадження, обприскували в липні 2017 р. вищезазначеними регуляторами росту з розрахунку 50 мл розчину на рослину. Через тиждень після обробки листки і хвою рослин збирали для проведення біохімічного аналізу. Проби відбирали зі середнього рівня стебла рослин. Концентрацію регуляторів росту застосовували згідно з інструкцією до препаратів, гіберелову кислоту використовували у концентрації 25 мг/л дистильованої води.

Вміст водорозчинного білка визначали за методом Бредфорда [22]. Визначення пігментів фотосинтезу проводили в ацетонових екстрактах спектрофотометричним методом із розрахунком їхнього вмісту за формулами Ветштейна [4].

Кількість цукрів визначали фотометричним методом за Дюбойсом [14, 15]. Оцінку ступеня перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) проводили за методом, що базується на визначенні кількості з'єднань, які взаємодіють з тіобарбітуровою кислотою, у перерахунку на малоновий діальдегід (МДА) [24]. Аналіз вмісту фенольних сполук здійснювали фотометричним методом з використанням реактиву Фоліна-Деніса [5]. За контроль слугували рослини берези повислої та сосни звичайної без обробки регуляторами росту.

Досліди проводили у трьох біологічних повторностях. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакета прикладних комп'ютерних програм MS Excel 2003.

#### Результати і їхнє обговорення

Однією з найважливіших характеристик метаболізму в рослинному організмі є вміст білків. На рис. 1 представлено результати змін вмісту водорозчинних білків у листках берези та хвої сосни за обприскування їх PPP.

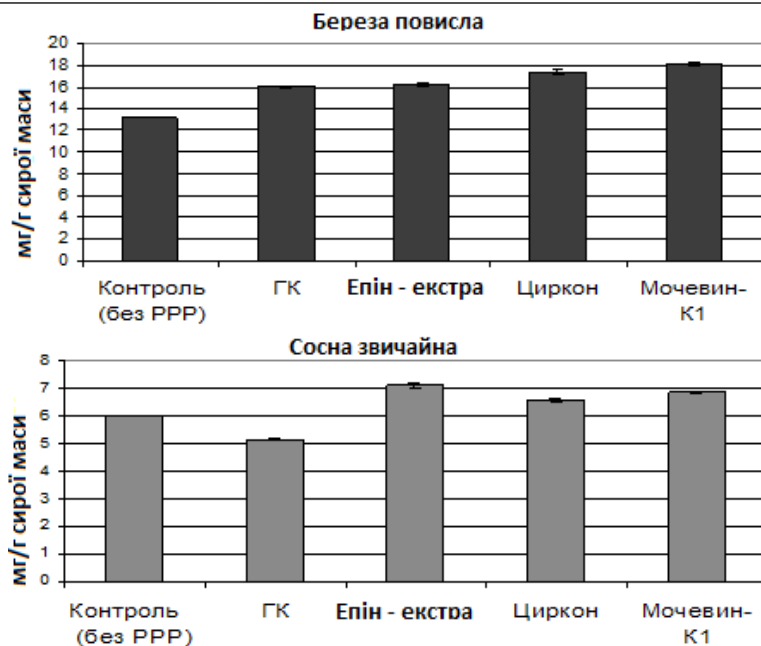


Рис. 1. Кількість водорозчинних білків у листках і хвої досліджуваних рослин

За результатами лабораторного аналізу встановлено, що вміст водорозчинних білків підвищувався за впливу стимуляторів росту в обох видів рослин. У березі повислої найбільш ефективно діяв Мочевин-К1, після обробки яким кількість білка підвищилася на 37,8 %, порівняно з контролем.

За впливу інших регуляторів результат був у межах 122–133 %. При цьому у сосни звичайної найбільшу кількість білка відзначено у варіанті з використанням Епіну-екстра (118 %), під дією Циркону вміст білка підвищувався до 110 % та під дією Мочевину-К1 – до 114 %, а за обприскування ГК рівень білка трохи знижувався (на 15 %).

Кількість фотосинтезуючих пігментів у рослинах можна використовувати як один із індикаторів стану навколишнього середовища це показник життєздатності рослин і їхньої толерантності до екстремальних умов існування [17, 19, 20].

Обприскування PPP сприяло збільшенню кількості пігментів фотосинтезу в рослинах сосни, де рівень хлорофілу *a* підвищився майже на 80 % (за дії Епіну-екстра та Циркону), гіберелін показав результат у 130 %, а за дії Мочевину-К1 вміст хлорофілу *a* трохи знизився (на 8 %), порівняно з контролем (рис. 2). Хлорофіл *b* у рослин сосни підвищувався і найбільшу його кількість встановлено за дії Епіну-екстра (230 %) відповідно до контролю. Вміст допоміжних пігментів – каротиноїдів у хвої сосни звичайної – залишався на рівні контролю.

За використання всіх PPP концентрація хлорофілу *a* в листках берези повислої підвищувалась (до 114–128 %), порівняно з контрольними рослинами (окрім дії Мочевину-К1, де його кількість виявилася трохи нижчою). Вміст хлорофілу *b* збільшувався лише за дії ГК (на 39 %), порівняно з контролем. У всіх інших варіантах концентрація зеленого пігменту не перевищувала його концентрацію в листках контрольних рослин. Вміст каротиноїдів у березі повислої був вищим за обприскування гібереліном (157 %) і Цирконом (172 %), в інших варіантах їхня кількість була більшою від контролю на 15–16 % (рис. 2).

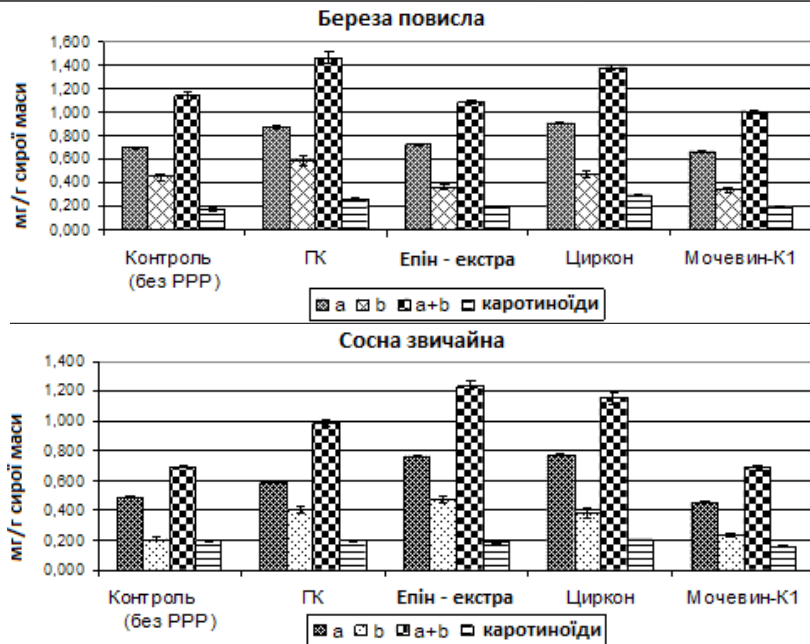


Рис. 2. Вміст пігментів фотосинтезу в листках і хвої досліджуваних рослин

До безпосередніх продуктів фотосинтезу належать розчинні вуглеводи, які здатні зв'язувати воду і затримувати її в клітині. Окрім того, вони утворюють комплекси з білками та нуклеїновими кислотами, стабілізуючи стан їхніх молекул у несприятливих умовах існування [11]. Тому наступним етапом нашої роботи було визначити вміст розчинних вуглеводів у досліджуваних нами рослинах.

Як і слід було очікувати, вміст цукрів в обох видах рослин підвищувався, оскільки зростає і кількість пігментів фотосинтезу. Майже всі використовувані нами регулятори росту сприяли збільшенню вмісту водорозчинних вуглеводів. Як і в дослідженні із вмістом пігментів у асимілюючих органах рослин, більш виражено це було у сосни звичайної, де ГК і Мочевин-К1 сприяли зростанню рівня первинних метаболітів на 44 %, Циркон – на 31 % та Епін-екстра – на 9 % щодо контрольних зразків (рис. 3).

У берези повислої спостерігали незначне збільшення вмісту розчинних вуглеводів (на 3–10 %), за винятком дії гібереліну, де їхній рівень знижувався на 16 %, порівняно з контролем (рис. 3).

Наступним етапом наших досліджень було вивчення вмісту в рослинах сумарної кількості фенольних сполук, які, як відомо, беруть участь у забезпеченні стійкості рослинних організмів до впливу несприятливих факторів. Доведено, зокрема, що вони мають властивості ендогенних регуляторів фізіологічних процесів за дії екстремальних чинників навколишнього середовища [6, 10, 23].

У берези повислої кількість фенольних сполук за дії PPP залишалася на рівні контролю або знижувалася до 85 % за обробки ГК, за дії Циркону – до 78 % (рис. 4).

У сосни при цьому рівень вторинних метаболітів за дії регуляторів росту трохи перевищував контрольні показники, крім Епіну-екстра. Імовірно, активація синтезу фенолів сприяла захистові фотосинтетичного апарату від впливу ультрафіолетового проміння [7, 25, 26].

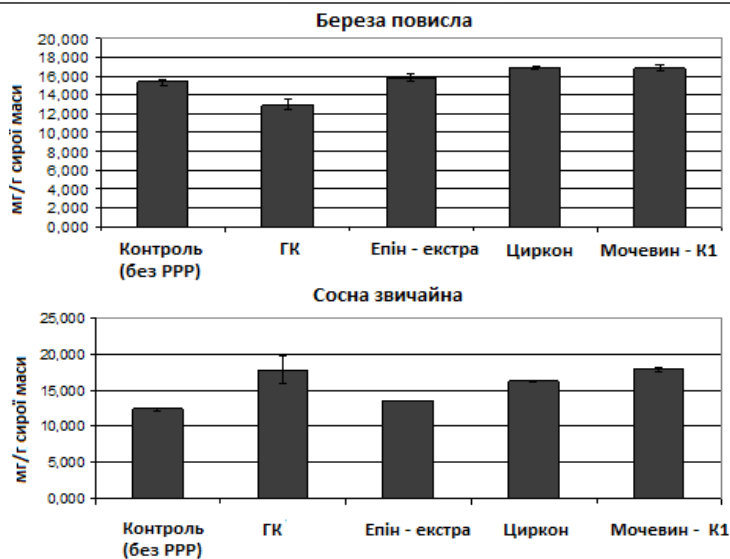


Рис. 3. Вміст розчинних вуглеводів у клітинах досліджуваних рослин

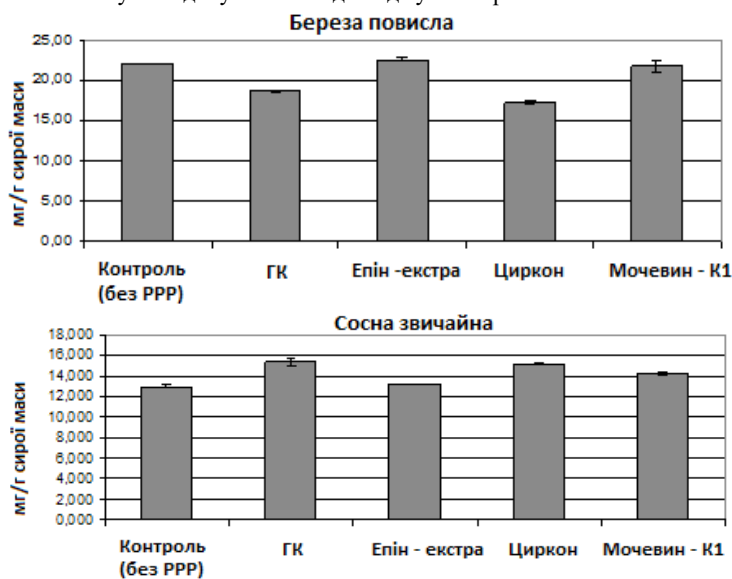


Рис. 4. Вміст сумарної кількості фенольних сполук у клітинах досліджуваних рослин

Як відомо, одним із основних показників руйнування мембран унаслідок впливу різних стресових чинників є зміни процесу перекисного окиснення ліпідів, тому це було наступним етапом наших досліджень. За дії використовуваних PPP рівень активності ПОЛ знизився в обох видах рослин. У сосни звичайної його вміст за обприскування Мочевином-К1 зменшився до 26 %, в інших варіантах – близько 50 %, порівняно з контролем (рис. 5).

Рівень малонового діальдегіду знизився також і у берези повислої, хоча трохи менше: за дії ГК і Циркону – до 54–55 %, Мочевину-К1 – до 82 % порівняно з контрольними рослинами.

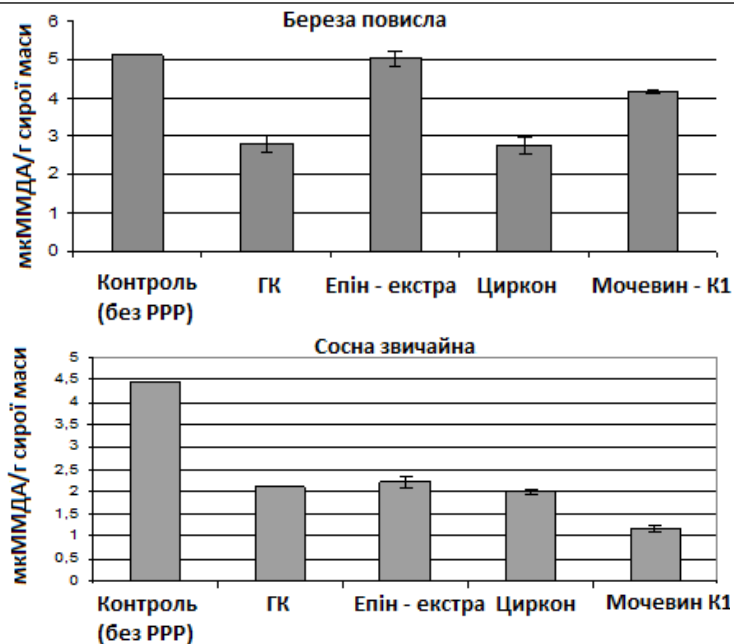


Рис. 5. Вміст малонового діальдегіду (МДА) у клітинах досліджуваних рослин

За обробки рослини Епіном-екстра рівень ПОЛ залишився на рівні контролю. Зменшення активності ПОЛ підтверджує ефективність використовуваних нами РРР щодо зниження стресу в рослинах.

Проведені дослідження показують, що застосування регуляторів росту на рослинах берези повислої та сосни звичайної за їхнього росту на породних відвалах вугільних шахт підвищує активність метаболічних процесів у рослин, знижуючи при цьому рівень стресу, викликаний впливом несприятливих умов середовища.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баранов В. І., Книш І. Б. Хіміко-мінералогічний склад порід відвалу вугільних шахт ЦЗФ "Львівсистеменерго" та їх вплив на проростання насіння // Промислова ботаніка: стан та перспективи розвитку: матеріали V Міжнар. конф. (Донецьк, 2007). С. 36–37.
2. Баранов В. І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ "Львівсистеменерго" як об'єкта для озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 172–178.
3. Воронина Л. П. Оценка экзогенного действия фитогормона 24-эпибрасинолида и его взаимодействия с гиббереллином (Аз) // Полифункциональность действия брасинолидов. М.: НЭСТ М, 2007. С. 128–139.
4. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание / под ред. Б.А. Рубина. М.: Высш. школа, 1975. 392 с.
5. Запрометов М. Н. Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. 191 с.
6. Запрометов М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
7. Запрометов М. Н. Фенольные соединения и их роль в жизни растения: 56-е Тимирязевское чтение. М.: Наука, 1996. 45 с.

8. *Калитуха Л. Н., Кабанникова Л. Ф., Чайка М. Т.* Влияние брассинолида на процессы роста и накопление фотосинтетических пигментов в проростках тритикале // Доклады АН Белоруссии. 1997. Т. 41. № 4. С. 69–72.
9. *Калитуха Л. Н., Макаров В. Н., Пишбытко Н. Л., Кабашикова Л. Ф.* Влияние брассиностероидов на физиолого-биохимические характеристики проростков пшеницы // Тез. докл. 4-го съезда Об-ва физиологов растений. М., 1999. Т. 2. С. 590.
10. *Кобилецька М., Терек О.* Вплив іонів кадмію на вміст фенольних сполук та вільного проліну в рослинах кукурудзи // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2002. Вип. 28. С. 311–316.
11. *Красильникова Л. А., Авксентьева О. А., Жмурко В. В.* и др. Биохимия растений. Ростов-на-Дону: Феникс; Харьков: Торсинг, 2004. 224 с.
12. *Малеванная Н. Н.* Препарат циркон – иммуномодулятор нового типа // Применение препарата циркон в производстве сельскохозяйственной продукции: тез. докл. науч.-практ. конф. М., 2004. С. 17–20.
13. *Малеванная Н. Н.* Ростостимулирующая и иммуномодулирующая активности природного комплекса гидроксикоричных кислот (препарат Циркон) // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: материалы 4 Междунар. науч. конф. (Минск, 2005). Минск, 2005. С. 141.
14. *Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова.* Л.: Агропромиздат, Ленингр. отд-ние, 1987. 430 с.
15. *Плешков Б. П.* Ускоренный полумикрометод определения сахаров // Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1976. С. 115–117.
16. *Прусакова Л. Д., Чиждова С. И.* Применение брассиностероидов в экстремальных для растений условиях // Агрохимия. 2005. № 7. С. 87–94.
17. *Рошка Н. Д., Клец Ф. И., Мустяцэ Г. И.* Лабильность пигментной системы шалфея мускатного в зависимости от условий произрастания в первом году вегетации // Физиолого-биохимические основы повышения продуктивности и устойчивости растений. Кишинев: Штиинца, 1993. С. 100–101.
18. *Рункова Л. В., Мельникова М. Н., Александрова В. С.* Действие циркона на трудноукореняемые растения // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: 2 Междунар. конф. Минск, 2001. С. 218.
19. *Смирнов И. А.* Структура хлоропластов и факторы среды. М.: Наука, 1986. 269 с.
20. *Таран Н. Ю.* Каротиноиды фотосинтетичних тканин за умов посухи // Физиология и биохимия культурных растений. 1999. Т. 31. № 6. С. 414–422.
21. *Шакирова Ф. М.* Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
22. *Bredford W.* A simple method for protein test // Annal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–252.
23. *Dixon R. A., Paiva N. L.* Stress-induced phenylpropanoid metabolism // Plant Cell. 1995. Vol. 7. N 7. P. 1085–1097.
24. *Kumar G. N., Knowles N. R.* Changes in Lipid Peroxidation and Lipolytic and Free-Radical Scavenging Enzyme during Aging and Sprouting of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Seed-Tubers // Plant Physiol. 1993. Vol. 102. P. 115–124.
25. *Li J., Ou-Lee T., Raba R.* et al. Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation // Plant Cell. 1993. Vol. 5. P. 171.
26. *Shimazaki K., Igarashi T., Kondo N.* Protection by the epidermis of photosynthesis against UV-C radiation estimated by chlorophyll a fluorescence // Physiol. Plant. 1988. Vol. 74. P. 34.
27. Електронний ресурс: <http://meteorit.at.ua>
28. Електронний ресурс: <http://www.agronauk.narod.ru/>

**THE INFLUENCE OF PLANTS GROWTH REGULATORS  
ON PHYSIOLOGICALLY-BIOCHEMICAL INDICATORS  
OF *BETULA PENDULA* ROTH. AND *PINUS SYLVESTRIS* L. PLANTS  
ON THE ROCK DUMPS OF COAL MINES**

**V. Baranov<sup>1</sup>, S. Vashchuk<sup>1</sup>, L. Karpinets<sup>1</sup>, S. Beshley<sup>2</sup>, R. Sokhanchak<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*

<sup>2</sup>*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
11, Stefanyk St., Lviv 79000, Ukraine*

The influence of plants growth regulators – gibberellin, Epin-extra, Zircon, Mochevin-K1 on the content of primary and secondary metabolism products, in particular, water soluble proteins, photosynthesis pigments, soluble carbohydrates, phenolic compounds and on the lipids peroxidation (PAL) activity in the *Pinus sylvestris* L. needles and *Betula pendula* Roth. leaves, growing on the rock dump of the Central Enrichment Factory of the Chervonograd mining industrial district was defined. When using practically all plant growth regulators the concentration of photosynthesis pigments, in particular *a* & *b* chlorophyll and carbohydrates, increased and slightly decreased in pine and birch under action of the Mochevin-K1. The content of auxiliary pigments – carotenoids in the *Pinus sylvestris* needles remained at the control level. The content of carotenoids in the *Betula pendula* leaves was higher when spraying gibberellin (157 %) and Zircon (172 %). The content of water-soluble proteins was elevated under influence of growth promoters both in *Pinus sylvestris* and *Betula pendula*. In birch the most effectively acted Mochevin-K1, when processing the amount of protein increased on 37.8 %, compared with control. In pine the largest amount of protein is noted in the variant using Epin-extra (118 %). In the birch leaves the amount of phenolic compounds under action the growth regulators remained at the control level, or decreased to 85 % (in the treatment of GK), with Zircon up to 78 %, while in pine needles, the level of secondary metabolites slightly exceeded the control indicators. The activity of lipids peroxide oxidation in pine reduced all growth regulators, in the birch when treating with Epin-extra changes regarding the LPO not noted.

The obtained results allow to recommend new growth regulators (Epin-extra, Zircon and Mochevin-K1) for increasing of plants tolerance to unfavorable living conditions.

*Keywords: Pinus sylvestris, Betula pendula, plants growth regulators, rock dumps*