



УДК 581.1:631.811.98:546.47:546.56

ВПЛИВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ І РЕГУЛЯТОРА РОСТУ ТРЕПТОЛЕМУ НА ЗАГАЛЬНИЙ ВМІСТ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У РОСЛИНАХ РІПАКУ ТА СОНЯШНИКУ

В. Гащшин, О. Грохольська, О. Пацула, О. Терек

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: vira_b87@ukr.net

Протягом останніх років у зв'язку з погіршенням екологічного стану багатьох регіонів збільшився інтерес до впливу важких металів на рослини. Досліджено сумісний вплив іонів важких металів і регулятора росту трептолему на вміст фенольних сполук у рослинах ріпаку (*Brassica napus* L.) та соняшнику (*Helianthus annuus* L.). Встановлено, що під впливом іонів купруму та цинку в рослинах ріпаку та соняшнику зростає загальний вміст фенолів, а за сумісної дії цих іонів і трептолему виявлено збільшення фенольних сполук порівняно з рослинами, вирощеними на середовищі з іонами цинку та купруму. Для зниження впливу стресових чинників природного й антропогенного походження доцільно використовувати регулятори росту рослин. Зокрема, за допомогою трептолему можна зменшити пошкоджувачий вплив іонів важких металів на рослини.

Ключові слова: *Brassica napus* L., *Helianthus annuus* L., фенольні сполуки, трептолем, купрум, цинк.

ВСТУП

Поглинання токсичних доз важких металів рослинами спричиняє пригнічення росту і розвитку, порушення фотосинтезу, дихання та інших біохімічних процесів. Окрім того, надходження їх у рослинні клітини призводить до оксидантного стресу внаслідок утворення активних форм кисню (АФК) [22].

Останнім часом велика увага приділяється вивченню механізмів формування стійкості рослин за дії різних несприятливих факторів. У рослин адаптація забезпечується численними фізіолого-біохімічними механізмами [14]. Однією з особливостей формування стійкості рослин є здатність до синтезу вторинних метаболітів, до яких належать фенольні сполуки [6, 7, 19, 20]. Феноли беруть участь у різних фізіологічних процесах: у регуляції процесів фотосинтезу та дихання [16], в ініціюванні симбіотичних відносин [11], у захисних реакціях за дії низьких температур [13] та інших стресових чинників.

Характерною ознакою цих сполук є наявність щонайменше одного ароматичного кільця та однієї або більшої кількості гідроксильних груп [25]. Антиоксидантні

властивості фенолів зумовлені їх високою донорною здатністю і здатністю їхніх радикалів стабілізувати і делокалізувати неспарений електрон, що зупиняє ланцюгові реакції. Крім того, феноли можуть утворювати хелатні комплекси з іонами перехідних металів і, таким чином, обмежувати проходження реакції Фентона [26]. Опосередкований захист мембран від окиснення за участю флавоноїдів полягає у зменшенні плинності мембран [18].

Останнім часом значного поширення набуло використання регуляторів росту рослин (PPP) – природних і синтетичних сполук, які в малих концентраціях сприятливо впливають на ріст і розвиток рослин [15]. Серед них уваги заслуговують препарати, створені в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України на основі N-окиснених піридинових сполук. Одним із таких сучасних регуляторів є трептолем: комплекс 2,6-диметилпіридин-І-оксид з бурштиною кислотою – 50 г/л та Емістиму С – 1,0 г/л (ІБОНХ НАНУ, МНТЦ „Агробіотех”, ЗАТ „Високий урожай”) [3].

Враховуючи антиоксидантні властивості фенольних сполук [17, 26], а також їхню здатність до взаємодії з іонами металів [23], можна припустити їх роль у знешкодженні АФК в умовах оксидантного стресу, спричиненого важкими металами. Водночас ця проблема дотепер залишається мало дослідженою. Існують лише окремі дані стосовно змін метаболізму фенолів під впливом токсичних доз деяких металів [8, 9, 17, 25], а дані про можливість використання препарату трептолему за таких умов повністю відсутні. Таким чином, метою нашої роботи було дослідження змін вмісту фенольних сполук у рослин ріпаку та соняшнику за умов сумісного впливу іонів важких металів і трептолему.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліди проводили на проростках рослин ріпаку (*Brassica napus* L.) сорту Микитинецький та соняшнику (*Helianthus annuus* L.) сорту Еліт. Насіння пророщували на дистильованій воді та розчині трептолему у концентрації 1 мл/л. Після цього тридобові проростки пересаджували на середовище Холланда–Арнона, що містило цинк (10^{-3} М) і купрум (10^{-5} М) сульфати. Контролем слугували рослини, вирощені на розчині Холланда–Арнона. Для досліджень використовували 7-, 14- та 21-добові рослини.

Вміст фенольних сполук у органах рослин ріпаку і соняшнику визначали з використанням реактиву Фоліна–Деніса [12]. Кількісний вміст фенольних сполук розраховували за калібрувальною кривою, побудованою за хлорогеновою кислотою.

Досліди проводили у трьох повторностях. Одержані дані опрацьовували статистично [4].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Початкові стадії росту рослин супроводжуються активними метаболічними процесами і перетвореннями речовин вторинного походження, зокрема фенольних сполук. Як біологічно активні речовини вони впливають на процеси біосинтезу і, відповідно, на ріст і розвиток рослин [28]. Встановлено, що у стресових умовах рослини накопичують велику кількість фенолів, які інгібують ростові процеси і сприяють підвищенню їхньої стійкості до несприятливих умов [21].

Показано, що інгібування росту є одним із найбільш ранніх симптомів впливу токсичних концентрацій іонів важких металів на рослини. Під впливом іонів купру-

му та цинку зменшується довжина пагонів і коренів, а також маса сирі речовини щодо контрольних рослин. Під час використання регулятора росту виявлено зниження токсичної дії важких металів на ріст рослин [2].

Результати наших досліджень засвідчують, що за дії іонів купруму і цинку у рослинах ріпаку та соняшнику зростає загальний вміст фенолів. У пагонах рослин ріпаку на 7 добу росту (рис. 1) у варіантах 10^{-3}M ZnSO_4 і $10^{-3}\text{M ZnSO}_4 + 1$ мл/л трептолему вміст фенолів підвищується у 1,5 та 2 рази порівняно з контролем, а у варіантах 10^{-5}M CuSO_4 та $10^{-5}\text{M CuSO}_4 + 1$ мл/л трептолему – у 1,3 та 1,5 рази відповідно. Схожа тенденція до збільшення вмісту даних метаболітів порівняно з контролем спостерігається і з подальшим ростом рослин. Так, у 21-добових рослин ріпаку наявність у середовищі іонів Zn^{2+} спричиняє підвищення вмісту фенольних сполук у 2,6 разу, а іонів Cu^{2+} – в 1,8 разу порівняно з контролем. Проте у коренях не виявлено залежності між наявністю у середовищі росту іонів важких металів і нагромадженням фенольних сполук.

Отже, рослини ріпаку, вирощені на середовищі з іонами важких металів, мають підвищений вміст фенолів, порівняно з контролем. При цьому на 14 добу експерименту знижується загальний вміст фенольних сполук, порівняно із 7 добою. Таке зниження вмісту фенолів може бути наслідком їхнього катаболізму в стресових умовах або наслідком порушення шляхів їх біосинтезу під впливом важких металів. Водночас за сумісної дії трептолему та іонів важких металів виявлено збільшення фенольних сполук, порівняно з рослинами ріпаку, вирощеними на середовищі з іонами цинку та купруму.

Зазначимо, що гідроксильна група, яка приєднана до ароматичного кільця та містить рухливий атом гідрогену, в основному забезпечує фенольним антиоксидантам здатність гальмувати вільнорадикальні процеси окиснення [16]. Разом з тим, антиоксидантний ефект поліфенолів реалізується за наявності й інших окисно-відновних пар. Фенольні антиоксиданти ефективно взаємодіють з гідропероксидними радикалами жирних кислот і ненасичених ліпідів [5]. Найбільш ранні реакції на вплив стрес-факторів відбуваються на рівні мембран [10]. Збільшення вмісту фенольних сполук за дії іонів цинку та купруму у пагонах рослин ріпаку може здійснюватись унаслідок підвищення вмісту ТБК-активних продуктів [1], що слугує ознакою оксидативного стресу.

Відомо, що феноли протидіють окиснювальному стресу: знешкоджують активні форми кисню, підтримують внутрішнє середовище клітини у відновленому стані, а також позитивно впливають на активність антиоксидантних ферментів [27]. На основі отриманих результатів виявлено, що у рослинах соняшнику (рис. 2), які росли на розчинах з іонами важких металів, збільшується вміст фенольних сполук, порівняно з контролем. У рослин, вирощених на середовищі з трептолемом і важкими металами, спостерігається незначне підвищення вмісту фенолів, порівняно з рослинами, які росли на середовищі лише з іонами цинку та купруму. Аналіз даних, наведених на рис. 2, свідчить, що під впливом іонів цинку та купруму вміст фенольних сполук підвищується на 21 добу росту рослин у середньому в 2 і 1,7 разу щодо контролю.

Відомо, що основним джерелом активних форм кисню у рослинному організмі є фотосинтетичні процеси, відповідно, основна кількість антиоксидантів локалізована в листках. Вміст фенолів у наших дослідженнях у пагонах ріпаку та соняшнику був значно вищий, ніж у коренях.

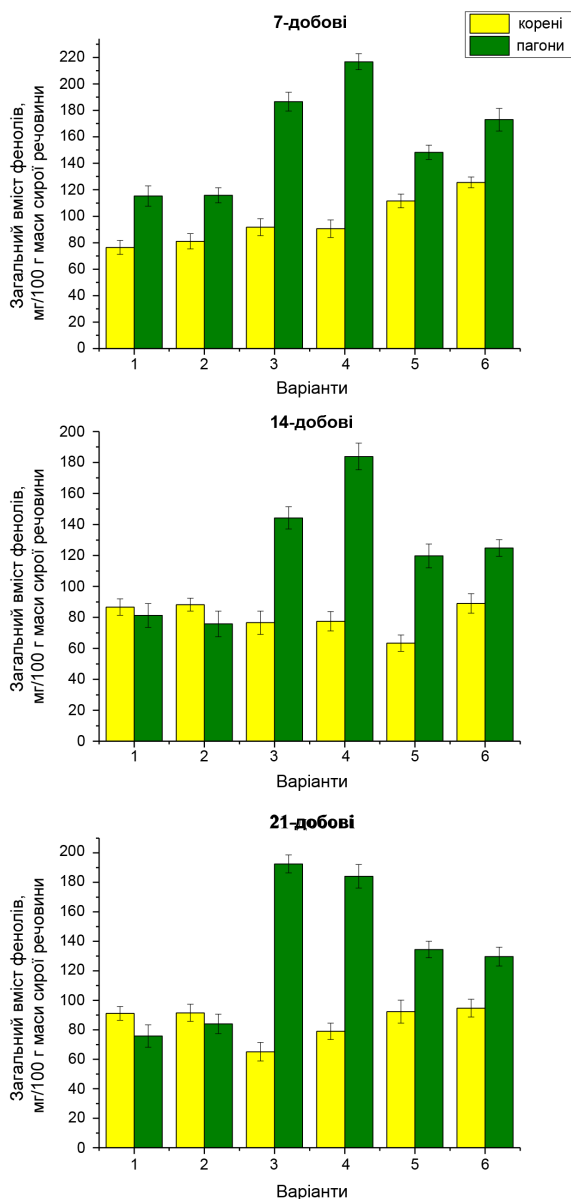


Рис. 1. Загальний вміст фенольних сполук у рослин ріпаку за дії іонів важких металів і трептолему: 1 – H_2O → поживне середовище Хогланда–Арнона (контроль); 2 – 1 мл/л трептолему → середовище Хогланда–Арнона; 3 – H_2O → середовище Хогланда–Арнона + $10^{-3}M$ $ZnSO_4$; 4 – 1 мл/л трептолему → середовище Хогланда–Арнона + $10^{-3}M$ $ZnSO_4$; 5 – H_2O → середовище Хогланда–Арнона + $10^{-5}M$ $CuSO_4$; 6 – 1 мл/л трептолему → середовище Хогланда–Арнона + $10^{-5}M$ $CuSO_4$

Fig. 1. Total phenol contents in plants rape under the influence of heavy metals and Treptolem: 1 – H_2O → Hoagland–Arnone solutions (control); 2 – 1 ml/l Treptolem → Hoagland–Arnone solutions; 3 – H_2O → Hoagland–Arnone solutions + $10^{-3}M$ $ZnSO_4$; 4 – 1 ml/l Treptolem → Hoagland–Arnone solutions + $10^{-3}M$ $ZnSO_4$; 5 – H_2O → Hoagland–Arnone solutions + $10^{-5}M$ $CuSO_4$; 6 – 1 ml/l Treptolem → Hoagland–Arnone solutions + $10^{-5}M$ $CuSO_4$

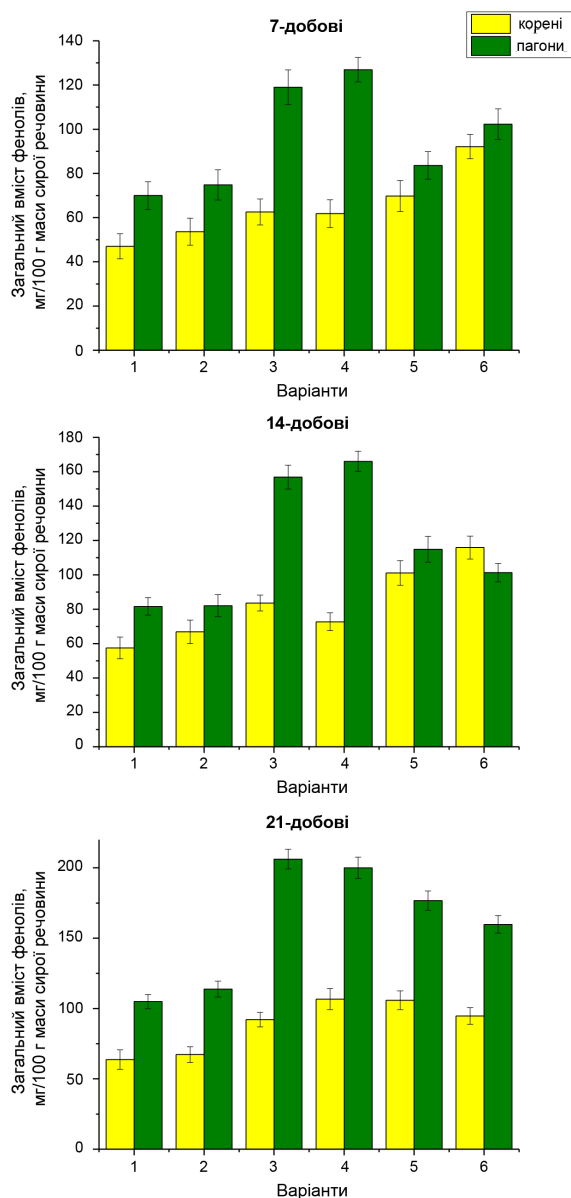


Рис. 2. Вплив іонів важких металів і трептолему на вміст фенольних сполук у рослин соняшнику (позначення ті ж, що й на рис. 1)

Fig. 2. Effect of heavy metals and Treptolem on phenolic content in plants of sunflower (notations are the same as in Figure 1)

Однією з причин індукції фенольного обміну може бути підвищення активності ключового ферменту цієї ланки метаболізму – фенілаланінаміакліази, яке спостерігається у стресових умовах [21]. Не виключений прояв регуляторних властивостей сполук фенольної природи [24]. Крім того, за умов окиснювального стресу

су, індукованого іонами важких металів [9, 25], нагромадження пероксиду водню є молекулярним сигналом пришвидшення диференціювання і перемикання метаболізму на програмовану клітинну смерть [17]. Зростання вмісту фенольних сполук під впливом важких металів є неспецифічною реакцією рослинного організму на токсичний вплив металів. Це виявляється у посиленні процесів окиснювальної полімеризації фенольних сполук, біосинтез яких змінюється, що, можливо, призводить до уповільнення росту [21].

ВИСНОВКИ

Рослинні феноли проявляють протекторний ефект у разі дії несприятливих факторів. Тому підвищення вмісту фенольних сполук можна пояснити їхньою участю у формуванні адаптації рослин до токсичної дії цинку та купруму, де вони відіграють роль хелаторів іонів важких металів та/або компонентів антиоксидантної системи.

Для зниження впливу стресових чинників природного і антропогенного походження доцільно використовувати регулятори росту рослин, які мають властивості адаптогенів, тобто нівелюють шкідливий вплив екзогенних факторів. Зокрема, за допомогою трептолему, який здатен активувати антиоксидантну систему, можна зменшити пошкоджуючий вплив іонів важких металів на рослини.

1. Бакун В., Пацула О., Терек О. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у рослин соняшнику і ріпаку за дії трептолему в умовах токсичного впливу іонів цинку та міді. **Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.**, 2011; 55: 194–200.
2. Бакун В.Р., Пацула О.І., Терек О.І. Вплив трептолему на ростові параметри рослин ріпаку та соняшнику за дії іонів цинку і міді. В кн.: **Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів**. Матер. XI конф. мол. вч. м. Київ, 22–24 червня 2010 р. Київ, 2010. С. 15–17.
3. Грицаєнко З.М., Пономаренко С.П., Карпенко В.П., Леонтюк І.Б. **Біологічно активні речовини в рослинництві**. К.: ЗАТ „НІЧЛАВА”, 2008. 352 с.
4. Гумецький Р.Я., Паляниця Б.М., Чабан М.Є. **Математичні методи в біології**. Теоретичні відомості, програмований практикум, комп'ютерні тести: навч. посібник. Львів: Вид. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2004. 112 с.
5. Загоскіна Н.В., Олениченко Н.А. и др. Способность различных сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к образованию фенольных соединений. **Прикл. биохим. и микробиол.**, 2005; 41(1): 113–116.
6. Запрометов М.Н. Специализированные функции фенольных соединений в растениях. **Физиол. растений**, 1993; 40(6): 921–931.
7. Запрометов М.Н. **Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях**. М.: Наука, 1993. 272 с.
8. Карпин О., Цвілинюк О., Терек О. та ін. Антиоксидантна активність і вміст поліфенолів у рослинах *Carex hirta* L. та *Faba bona medic.* (*Vicia faba* L.) за дії нафтового забруднення. **Біологічні Студії/Studia Biologica**, 2009; 3(2): 109–114.
9. Кобилецька М., Терек О. Вплив іонів кадмію на вміст фенольних сполук і вільного проліну в рослинах кукурудзи. **Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.**, 2002; 28: 311–316.
10. Колупаєв Ю.Е., Карпец Ю.В. **Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров**. К.: Основа, 2010. 352 с.
11. Макарова Л.Е., Латышева С.Е., Путилина Т.Е. Влияние фенольных соединений, выделяемых корнями растений гороха (*Pisum sativum* L.), на размножение *Rhizobium* в ризосфере. **Вісн. Харків. нац. аграрного ун-ту. Сер. біол.**, 2005; 2 (7): 42-49.

12. **Методы биохимического исследования растений** / Под ред. А. И. Ермакова. Л., 1987. 191 с.
13. Олениченко Н. А., Загоскина Н.В. Ответная реакция озимой пшеницы на действие низких температур: образование фенольных соединений и активность L-фенилаланин-аммиак-лиаза. **Прикладная биохимия и микробиология**, 2005; 41(6): 681–685.
14. Терек О.І. Механізми адаптації та стійкості рослин до несприятливих факторів довкілля. **Журнал агробіології та екології**, 2004; 1(1–2): 41–56.
15. Терек О.І., Пацула О.І. **Ріст і розвиток рослин**. Львів: Вид-во Львів. ун-ту, 2011. 328 с.
16. Чечуй О.Ф. Вміст фенольних сполук в насінні *Glycine max* L. при проростанні за умов оксидативного стресу, спричиненого впливом іонів кобальту та кадмію. **Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. Біол.**, 2011; 30: 197–200.
17. Шемет С.А., Феденко В.С. Накопичення фенольних сполук у проростках кукурудзи за токсичної дії іонів кадмію. **Физиол. и биохим. культ. растений**, 2005; 37(6): 505–513.
18. Arora A., Byrem T., Nair M., Strasburg G. Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 2000; 373: 102–109.
19. Dai J., Mumper R.J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, 2010; 15: 7313–7352.
20. Dimitrios B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, 2006; 17: 505–512.
21. Dixon R.A., Paiva N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, 1995; 7(7): 1085–1097.
22. Ganeval G., Zozikova E. Effect of increasing Cu²⁺ concentrations on growth and content of free phenols in two lines of wheat (*Triticum aestivum*) with different tolerance. **Gen. Appl. Plantphysiology**, 2007; 33(1–2): 75–82.
23. Hale K.L., McGrath S.R., Lombi E. et al. Molybdenum sequestration in *Brassica* species. A role for anthocyanins? **Plant. Physiol.**, 2001; 126(4): 1391–1402.
24. Koch J.R., Creelman R.A., Eshita S.M. et al. Ozone sensitivity in hybrid poplar correlates with insensitivity to both salicylic acid and jasmonic acid. The role of programmed cell death in lesion formation. **Plant Physiol.**, 2000; 123(2): 487–496.
25. Michalak A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal. **Polish J. of Environ. Stud.**, 2006; 15(4): 523–530.
26. Rice-Evans C., Miller N., Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, 1997; 2: 152–159.
27. Shetty K. Role of proline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications; a review. **Process Biochem**, 2004; 39: 789–803.
28. Stankovic M.S., Niciforovic N., Topuzovic M., Solujic S. Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* L. var. *Montanum*, f. *Supinum* (L.) Reichenb. **Biotechnol. & Biotechnol. Eq.**, 2011; 25(1): 2222–2227.

INFLUENCE OF HEAVY METALS AND GROWTH REGULATOR TREPTOLEM ON TOTAL PHENOL CONTENTS IN RAPE AND SUNFLOWER PLANTS

V. Hashchyshyn, O. Groholska, O. Patsula, O. Terek

Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine

e-mail: vira_b87@ukr.net

During recent years the deterioration of ecological conditions in many regions was increased interest to the effects of heavy metals on plants. The influence of heavy metals

ions compatible with the new Ukrainian plant growth regulator Treptolem on the phenolic contents on *Brassica napus* and *Helianthus annuus* plants were explored. Increase of quantity phenolic compounds in rape and sunflower plants under influence of zinc and copper ions was established. In variants with heavy metals ions compatible with Treptolem the content of phenolic compounds increased as compared with variants with metals. To reduce the influence of stress factors of natural and anthropogenic origin, it is appropriate to use plant growth regulators. In particular, the use of treptolem can reduce the damaging effects of heavy metals towards plants.

Keywords: *Brassica napus* L., *Helianthus annuus* L., phenolic compounds, Treptolem, copper, zinc.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И РЕГУЛЯТОРА РОСТА ТРЕПТОЛЕМА НА ОБЩЕЕ СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У РАСТЕНИЙ РАПСА И ПОДСОЛНЕЧНИКА

В. Гацшин, О. Грохольская, О. Пацула, О. Терек

Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: vira_b87@ukr.net

В последние годы в связи с ухудшением экологического состояния многих регионов возрос интерес к воздействию тяжелых металлов на растения. Исследовано совместное влияние ионов тяжелых металлов и регулятора роста трептолем на содержание фенольных соединений в растениях рапса (*Brassica napus* L.) и подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Установлено, что при влиянии ионов меди и цинка в растениях рапса и подсолнечника возрастает общее содержание фенолов. При совместном действии трептолема и ионов тяжелых металлов обнаружено еще большее увеличение содержания фенольных соединений по сравнению с растениями, выращенными на среде с ионами цинка и меди. Для снижения влияния стрессовых факторов природного и антропогенного происхождения целесообразно использовать регуляторы роста растений. В частности, использование трептолема может уменьшить вредное воздействие ионов тяжелых металлов на растения.

Ключевые слова: *Brassica napus* L., *Helianthus annuus* L., фенольные соединения, трептолем, купрум, цинк.

Одержано: 01.02.2012