

УДК 581.1:631.811.98:582.683.2

НАКОПИЧЕННЯ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ У РОСЛИНАХ *BRASSICA NAPUS* L. І *HELIANTHUS ANNUUS* L. ПІД ВПЛИВОМ СОЛЕЙ ЦИНКУ ТА РЕГУЛЯТОРА РОСТУ ТРЕПТОЛЕМУ

В.Р. ГАЩИШИН, О.І. ПАЦУЛА, О.І. ТЕРЕК

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

Вивчали вплив солей цинку та регулятора росту трептолему на вміст важких металів в органах рослин ріпаку і соняшнику. Переважна частина поглинутих рослинами іонів цинку акумулювалась у коренях досліджуваних рослин. Показано, що в рослинах ріпаку трептолем сприяє накопиченню іонів цинку і міді в коренях, а в соняшнику — інгібує їх надходження у рослину. За впливу трептолему іони заліза й мanganу сильніше накопичувались у пагонах.

Ключові слова: *Brassica napus* L., *Helianthus annuus* L., іони цинку, трептолем.

Загальне забруднення навколишнього середовища в результаті антропогенного впливу зробило проблему адаптації та стійкості рослин однією з головних у фізіології рослин. Важкі метали за темпами накопичення в біосфері та рівнем токсичності, порівняно з іншими інгредієнтами промислових викидів, становлять найбільшу небезпеку для середовища [8, 16]. Залежно від граничних концентрацій токсичними можуть бути будь-які речовини, у тому числі й життєво необхідні. Зокрема, цинк — метал, який належить до мікроелементів, проте підвищені його концентрації у клітині призводять до оксидативного стресу [5, 9, 19, 20]. У зв'язку з цим для зняття дії стресорів як природного, так і антропогенного походження, отримання екологічно чистої продукції, поліпшення процесів інтродукції нових господарсько корисних видів рослин доцільно використовувати регулятори росту, які мають властивості адаптогенів, тобто нівелюють шкідливий вплив екзогенних чинників [12].

Сьогодні перспективним напрямом у цьому плані є фізіолого-біохімічні дослідження адаптації рослин до забруднення середовища іонами важких металів із застосуванням регуляторів росту рослин як протекторних сполук. Тому метою нашої роботи було вивчення впливу одного з новітніх регуляторів росту олійних культур — трептолему — на вміст важких металів в органах рослин соняшнику і ріпаку. Проведення досліджень із новими біологічно активними речовинами, розробленими в Україні, вкрай важливе для їх впровадження у практику землеробства.

Методика

Дослідження проводили на важливих сільськогосподарських рослинах — ярому ріпаку (*Brassica napus* L.) сорту Микитинецький та соняшнику

(*Helianthus annuus* L.) сорту Еліт. Дослідження проведено з трептолемом (ТУ У 24.2-03563790-042—2001) — комплексом 2,6-диметилпіридин-1-оксиду з бурштиною кислотою — 50 г/л та емістимом С — 1,0 г/л (ІБОНХ НАН України, МНТЦ «Агробіотех», ЗАТ «Високий урожай») [6, 21]. Препарат створено в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України у відділі хімічної регуляції росту та розвитку рослин. Трептолем підвищує врожай насіння, вміст у ньому олії, знижує ураженість рослин гнилями, підвищує їх стійкість до стресових чинників [1, 12]. Насіння пророщували на дистильованій воді й на розчині трептолему концентрацією 1 мл/л, яка за нашими попередніми результатами є оптимальною [2]. Після цього тридобові проростки пересаджували на середовище Хогланда—Арнона [17], що містило сульфат цинку (10^{-3} М). Контролем слугували рослини, вирощені на розчині Хогланда—Арнона без додаткового добавляння іонів цинку. Середовище мало такий склад солей (г/л): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ — 1,18; KNO_3 — 0,51; KH_2PO_4 — 0,14; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,24; FeSO_4 — 0,1; H_3BO_3 — 0,014; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ — 0,009; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,001; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,002; H_2MoO_4 — 0,00042. Рослини вирощували в теплиці у контрольованих умовах. Аналізували рослини на 21-шу добу росту на розчинах.

Важкі метали у рослинних пробах визначали атомно-абсорбційним методом на спектрофотометрі С115М1 у пропан-бутановому полум'ї з використанням дейтерієвого коректора неселективної абсорбції [11]. Проби повітряно-сухого рослинного матеріалу озолювали за температури 525 °С. Після спалювання попіл змочували дистильованою водою та додавали до нього 10—15 мл HNO_3 , розбавленої 1 : 1. Накривали тигель і нагрівали на водяній бані до кипіння. Вміст тигля фільтрували в мірну колбу об'ємом 50 мл. Тигель та фільтр декілька раз споліскували дистильованою водою, доводячи об'єм до мітки. Вміст колби перемішували та залишали для відстоювання на 1 добу.

Досліди повторювали тричі. У кожному варіанті виконували по три біологічні повторення, а в них — по три аналітичні. Отримані результати оброблено статистично [7].

Результати та обговорення

Особливе місце серед важких металів посідає цинк, який є життєво необхідним елементом. Цинк у формі Zn^{2+} , ZnOH^+ , ZnCl^+ міцно адсорбований ґрунтовими колоїдами. Рослини поглинають його у вигляді іонів Zn^{2+} . Нормальна концентрація цинку в листках рослин коливається в межах 20—100 мкг/г сухої речовини [9, 18]. Йому належить важлива роль у метаболізмі рослин, адже він є компонентом більш як 300 ферментів. Без нього не синтезуються нуклеїнові кислоти, він активує РНК- та ДНК-полімерази. За дефіциту цинку порушується також загальний синтез білків. Він необхідний для забезпечення стабільності рибосом; входить до складу ферментів протеаз, амінопептидаз і карбоксипептидаз, які каталізують розкладання білків; бере участь у роботі транскрипційних факторів, задіяний у формуванні ДНК-зв'язувальних доменів цих факторів [15, 22]. Цинк активує багато дегідрогеназ, зокрема алкогольдегідрогеназу, карбоангідразу; бере участь у синтезі триптофану — попередника фітогормону ауксину [10].

Згідно з отриманими нами результатами, у рослинах ріпаку і соняшнику накопичуються значні кількості цинку. Зокрема, у ріпаку він акумулюється в пагонах, де його концентрація у 6 разів вища, ніж у кон-

тролі, а в коренях цей показник вищий в 1,6 раза (табл. 1). У соняшнику вміст цинку в коренях зростає в 1,7 раза, у пагонах — удвічі порівняно з контролем (табл. 2). У ріпаку за впливу трептолеми вміст цинку в коренях підвищувався на 23 %, тоді як у пагонах — знижувався на 22 % порівняно з варіантом з іонами цинку. У рослинах соняшнику тенденція щодо накопичення іонів цинку була подібною: у коренях його вміст зростає, у пагонах — знижувався.

Відомо, що мідь є ключовим компонентом, який забезпечує функціонування таких ферментів, як аскорбатоксидаза, галактооксидаза та інші, а також низки інших білків. Мідь у ґрунті трапляється тільки у двовалентній формі в складі мінералів, а також в органічних речовинах. У корені рослин надходять катіони Cu^{2+} , які локалізуються в коренях, хлоропластах і стають малорухливими. Концентрація міді в рослинах змінюється в межах 5—20 мкг/г сухої речовини [10, 23]. Мідь входить до складу білка пластоціаніну — донора електронів для фотосистеми I, ферментів тирозинази, лактази, які окиснюють рослинні феноли. Вона бере участь в утворенні біополімерів — лігніну, меланіну. Ферменти цитохромоксидаза й оксидаза аскорбінової кислоти також містять цей елемент. Важливим ферментом, який містить два атоми міді і два атоми цинку, є супероксиддисмутаза. Отже, мідь бере участь у вуглеводному й азотному метаболізмі [18, 23].

ТАБЛИЦЯ 1. Вміст важких металів у 21-добових рослин ріпаку

Варіант	Вміст, мкг/г сухої речовини			
	Контроль	Трептолем	Zn^{2+}	Zn^{2+} +трептолем
Zn Пагін	311,4±6,2	434,2±8,7	1772,7±35,5	1377,9±27,6
	1128,4±22,6	1064,5±1,3	1861,1±37,2	2282,4±45,6
Cu Пагін	33,0±0,7	186,8±3,7	13,5±0,3	10,6±0,2
	120,0±2,3	65,7±1,3	523,9±7,7	467,3±9,4
Fe Пагін	122,3±2,5	111,8±2,2	91,3±1,8	76,1±1,5
	412,3±8,3	685,4±13,7	295,1±5,9	842,9±16,9
Mn Пагін	26,6±0,8	36,1±1,1	40,9±0,8	37,9±1,1
	20,4±0,4	23,1±0,5	16,1±0,3	18,6±0,6

Примітка. Тут і в табл.2: різниця відносно контролю статистично достовірна за $p < 0,05$.

ТАБЛИЦЯ 2. Вміст важких металів у 21-добових рослин соняшника

Варіант	Вміст, мкг/г сухої речовини			
	Контроль	Трептолем	Zn^{2+}	Zn^{2+} +трептолем
Zn Пагін	410,1±8,2	550,8±11,0	835,3±16,7	770,3±15,4
	707,4±14,2	661,0±13,2	1191,1±23,8	1310,1±26,2
Cu Пагін	7,2±0,1	13,3±0,3	15,0±0,3	15,7±0,3
	49,0±0,2	27,6±0,5	69,1±1,4	77,6±1,6
Fe Пагін	93,4±1,9	149,0±3,0	69,8±1,4	74,6±1,5
	133,1±2,7	171,4±3,4	225,5±4,5	130,6±2,6
Mn Пагін	26,7±0,5	30,1±0,6	21,4±0,4	22,9±0,5
	9,7±0,2	8,9±0,2	6,7±0,1	6,7±0,1

Надмірна кількість міді призводить до пожовкнення молодих листків, пошкодження клітин кореня, які накопичують багато цих катіонів. Рослини за допомогою білків із невеликою молекулярною масою, які містять багато SH-груп, здатні зв'язувати мідь у нетоксичні сполуки — металотіонеїни [10, 18].

Результати наших досліджень показали, що в рослинах ріпаку за дії іонів цинку значна кількість міді акумулюється в коренях, де вміст Cu^{2+} у 39 разів вищий, ніж у надземній частині рослин, і в 4 рази вищий відносно контролю (див. табл. 1). Під дією регулятора росту концентрація цього елемента в рослинах ріпаку знижується. В соняшнику вміст міді в коренях вищий, ніж у пагонах у 5 разів, а за сумісної дії з трептолемом концентрація Cu^{2+} зростає (див. табл. 2). У разі застосування лише трептолему мідь накопичується в пагонах ріпаку.

При дослідженні накопичення іонів міді та нікелю в тканинах рослин *Vaccinium angustifolium* L. поблизу сталеплавильного комбінату виявлено логарифмічну залежність зниження концентрації забруднювальних речовин зі збільшенням відстані від виробництва. Вміст металів у тканинах рослин спадає у ряду корінь > стебло > листки > плоди [13]. Переважне накопичення іонів Cu^{2+} в коренях різних рослин виявлено й в інших публікаціях [14].

Залізо — важливий елемент для рослинного організму. Воно може надходити в рослину у формі Fe^{2+} або Fe^{3+} , а також у незначних кількостях у складі молекул хелатних сполук. Транспортується залізо по ксилемі, здебільшого у вигляді хелату з цитратом. Його головна функція — переносити електрони в процесах дихання, фотосинтезу, відновлення азоту, сірки. Залізо є важливим компонентом порфіринових (каталаза, пероксидаза, цитохромні системи) та непорфіринових (альдолаза та інші) ферментів. Іони цього елемента необхідні для утворення попередника порфіринів β -амінолевуленової кислоти, а також для синтезу хлорофіловмісних білків хлоропластів [10, 18].

За дії іонів цинку на рослини ріпаку ми виявили зниження вмісту заліза на 28 % у коренях і на 25 % — у пагонах (див. табл. 1). Антагонізм Zn—Fe широковідомий. Надлишок цинку призводить до помітного зниження вмісту заліза в рослинах. Відомі два можливі механізми цієї взаємодії: конкуренція між Zn^{2+} та Fe^{2+} у процесі поглинання; порушення процесів хелатоутворення при поглинанні і транспортуванні заліза від коренів до верхніх частин рослин [18]. Трептолем разом із цинком змінює процес акумуляції заліза рослинами ріпаку: в коренях його вміст зростає майже втричі, в надземній частині — знижується на 17 %. Трептолем, взятий окремо, по-різному впливає на акумуляцію заліза рослинами ріпаку — в коренях підвищує на 66 %, у пагонах його вміст залишається на рівні контрольних показників. У рослинах соняшнику трептолем сильніше індукує накопичення заліза в пагонах, ніж у коренях (див. табл. 2). За дії іонів цинку вміст заліза в надземній частині соняшнику зменшується на 25 %, у коренях — зростає на 70 %. Логічно припустити, що описані відмінності в акумуляції заліза рослинами ріпаку та соняшнику є наслідком видової специфічності.

Манган легко абсорбується рослинами із середовища. Він не утворює лігандів з органічними сполуками, а локалізований у тканинах та ексудатах ксилеми у катіонній формі. Оскільки манган транспортується в меристемах, найвищий його вміст у молодих органах рослин. Загалом манган вважають низькомобільним елементом. Більшість функцій цього

металу в рослинному організмі пов'язана з його окисно-відновним потенціалом. Відомо, що іони Mn^{2+} є компонентами ферментів аргінази та фосфотрансферази. Іони мангану активують оксидази, входять до складу кисневидільного комплексу фотосинтетичного апарату, відіграють ключову роль у фотосинтетичному транспорті електронів. Надмірний вміст цього елемента призводить до токсичних ефектів: хлорозу, появи некротичних темних плям на листках, нерівномірного розподілу хлорофілу в зрілих листках [10, 18].

У наших дослідженнях іони цинку підвищували акумуляцію мангану в пагонах ріпаку на 53 % і знижували його вміст у коренях на 21 % (див. табл. 1). У соняшника вміст мангану за дії цинку знижувався на 20 % у пагонах та на 31 % у коренях (див. табл. 2). За сумісної дії іонів цинку і трептолему істотних відмінностей у накопиченні мангану в досліджуваних рослин не виявлено. Під впливом трептолему в ріпаку катіони мангану перерозподілялись у бік пагона. У рослинах соняшнику цей регулятор також посилював накопичення мангану в надземній частині.

Нашими іншими дослідженнями встановлено, що в рослинах ріпаку й соняшнику важких металів накопичується значно більше від фонового рівня, внаслідок чого пригнічується ріст кореневої системи й надземної частини обох досліджуваних видів рослин [3]. Також як у коренях, так і в пагонах розвивався оксидативний стрес, про що свідчило понаднормове зростання вмісту ТБК-активних продуктів і пероксиду водню [4, 5].

Проаналізувавши результати дисперсійного аналізу відносних часток впливу трептолему й іонів цинку на вміст деяких важких металів в органах рослин, зазначимо, що в рослинах ріпаку відносні частки впливу іонів цинку на вміст важких металів доволі значні й знаходяться в межах 44,7—89,2 % (рис. 1), тоді як відносні частки сумісного впливу іонів цинку й регулятора росту істотні лише за дії на вміст заліза і становлять 74,1 % у пагонах та 86,7 % у коренях рослин ріпаку. Відносні частки

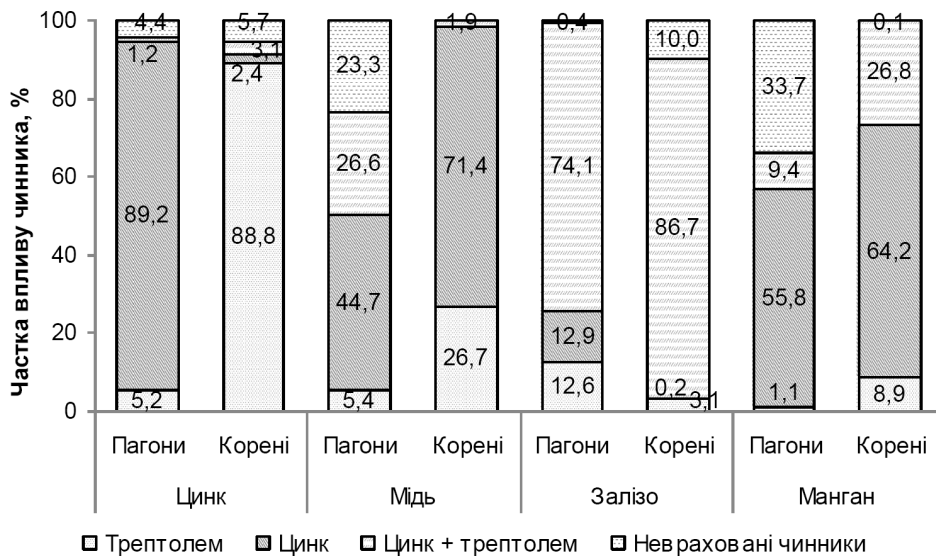


Рис. 1. Відносний вплив трептолему та іонів цинку на вміст важких металів в органах 21-добових рослин ріпаку

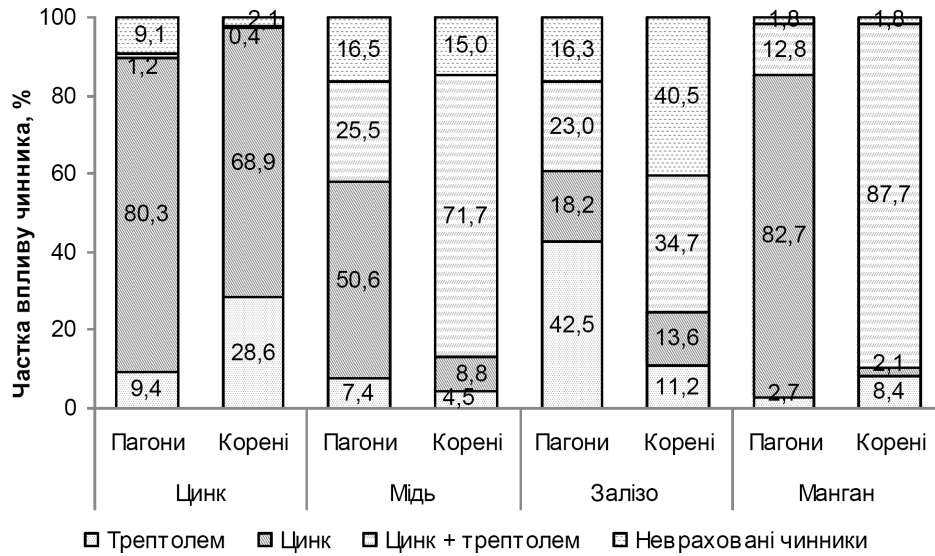


Рис. 2. Відносний вплив трептолему та іонів цинку на вміст важких металів в органах 21-добових рослин соняшника

впливу неврахованих чинників у рослинах ріпаку змінюються від 4,4 до 37,7 %. Деяко інша картина спостерігається в органах рослин соняшнику (рис. 2). Варто зазначити, що регулятор росту значно впливає на вміст цинку й заліза — 9,4—42,5 %. Щодо відносних часток впливу трептолему та іонів цинку на вміст важких металів у пагонах і коренях досліджуваних рослин встановлено, що вони змінюються від 23,0 до 87,7 %, тоді як частка впливу лише іонів цинку — від 13,6 до 82,7 %. Виявлено також, що відносні частки впливу неврахованих в експерименті чинників на вміст заліза значні (16,3—40,5 %).

Результати дисперсійного аналізу підтвердили, що зміни вмісту важких металів переважно зумовлені дією іонів цинку, меншою мірою — сумісною дією цинку і трептолему. Відносні частки впливу неврахованих в експерименті чинників на вміст важких металів не перевищують частки впливу іонів цинку й досліджуваного регулятора.

Отже, в рослинах ріпаку разом із цинком активується поглинання Cu і Mn, а вміст Fe знижується. Вміст усіх елементів, за винятком мангану, в коренях порівняно з пагонами зростає, тобто цинк блокує надходження металів у пагони. Цинк спричинює зниження вмісту Mn, а також зростання концентрації Cu у рослинах соняшнику. Іони цинку блокують надходження заліза у пагони.

Проаналізувавши вміст важких металів у 21-добових рослинах ріпаку і соняшника, ми встановили значно вищу акумуляцію металів у тканинах кореневої системи порівняно з листками. Це можна пояснити функціонуванням захисних бар'єрних механізмів у системі корінь—листок, які заважають надходженню токсикантів до надземних частин рослин.

В результаті проведених досліджень виявлено, що за дії трептолему акумуляція іонів металів коренями ослаблюється, а їх накопичення в надземній частині обох видів рослин активується.

1. Анішин Л.А., Пономаренко С.П., Грицаєнко З.М. Регулятори росту рослин. Рекомендації по застосуванню. — К., 2011. — 40 с.
2. Бакун В.Р., Ковальська О.Р., Пацула О.І. Протекторна роль трептолему у рослин ріпака та соняшника за дії іонів свинцю // Молодь і поступ біології: Зб. тез IV Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів. — Львів, 2008. — С. 373—374.
3. Бакун В.Р., Пацула О.І., Терек О.І. Вплив трептолему на ростові параметри рослин ріпаку та соняшнику за дії іонів цинку та міді // Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів: Матеріали XI конф. молодих вчених. — Київ, 2010. — С. 15—17.
4. Бакун В.Р., Пацула О.І., Терек О.І. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у рослин соняшнику та ріпаку за дії трептолему в умовах токсичного впливу іонів цинку та міді // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. — 2011. — 55. — С. 194—200.
5. Гащишин В.Р., Пацула О.І., Терек О.І. Вплив іонів цинку, міді і трептолему на вміст пероксиду водню й активність каталази та пероксидази рослин *Brassica napus* L. // Укр. ботан. журн. — 2012. — 69, № 5. — С. 107—114.
6. Грицаєнко З.М., Пономаренко С.П., Карпенко В.П., Леонтюк І.Б. Біологічно активні речовини в рослинництві. — К.: ЗАТ «Нічлава», 2008. — 352 с.
7. 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 ім. І. Франка, 2004. — 112 с.
8. Гуральчук Ж.З. Фітотоксичність важких металів та стійкість рослин до їх дії. — К.: Логос, 2006. — 208 с.
9. Колупаєв Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. — Киев: Основа, 2010. — 352 с.
10. Коць С.Я., Петерсон Н.В. Мінеральні елементи і добрива у живленні рослин. — К.: Логос, 2005. — 182 с.
11. Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнения окружающей среды металлами. — М.: Гидрометеоиздат, 1981. — 80 с.
12. Терек О.І., Пацула О.І. Ріст і розвиток рослин. — Львів: Вид-во Львів. ун-ту, 2011. — 328 с.
13. Bagatto G., Shorthouse J.D. Accumulation of copper and nickel in plant tissues and an insect gall of lowbush blueberry, *Vaccinium angustifolium*, near an ore smelter at Sudbury, Ontario, Canada // Can. J. Bot. — 1991. — 69, N 7. — P. 1483—1490.
14. Berrow M.L., Bourridge J.C. Uptake, distribution and effects of metal compounds on plants // Metal and Their Compounds Environment: Occurrence, Analysis and Biol. Relevance. — New York: Verlag Chemie, 1991. — P. 399—410.
15. Broadley M.R., White P.J., Hammond J.P. et al. Zinc in plants // New Phytologist. — 2007. — 173. — P. 677—702.
16. Dubey R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants // Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. /S.D. Gupta [ed.]. — Sci. Publ., 2011. — P. 177—203.
17. Hoagland D.R., Arnon D.I. The water-culture method for growing plants without soil // Univ. Calif. Coll. Agric. Exp. Sta. Circ. CA. — Berkeley, 1950. — 31 p.
18. Kabata-Pendias A. Trace elements in soils and plants [4th ed.]. — Boca Raton: CRC Press, 2011. — 505 p.
19. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. — 2002. — 7, N 9. — P. 405—409.
20. Nagajyothi P.C., Lee K.D., Sreekanth T.V.M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review // Environ. Chem. Lett. — 2010. — 8. — P. 199—216.
21. New plant growth regulators: basic research and technologies of application / Eds. S.P. Ponomarenko, H.O. Iutynska. — Kyiv: Nichlava, 2010. — 211 p.
22. Ramesh S.A., Shin R., Eide D.J., Schachtman D.P. Differential metal selectivity and gene expression of two zinc transporters from rice // Plant Physiol. — 2003. — 133. — P. 126—134.
23. Yruela I. Copper in plants // Braz. J. Plant Physiol. — 2005. — 17. — P. 145—156.

Отримано 05.03.2014

НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В РАСТЕНИЯХ *BRASSICA NAPUS* L. И *HELIANTHUS ANNUUS* L. ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СОЛЕЙ ЦИНКА И РЕГУЛЯТОРА РОСТА ТРЕПТОЛЕМА

В.Р. Гащичин, О.И. Пацула, О.И. Терек

Львовский национальный университет имени Ивана Франко

Изучали влияние ионов цинка и регулятора роста трептолема на содержание тяжелых металлов в органах растений рапса и подсолнечника. Большая часть поглощенных растениями ионов цинка аккумулировалась в корнях исследуемых растений. Показано, что в растениях рапса трептолем содействует накоплению ионов цинка и меди в корнях, а у подсолнечника — ингибирует их поступление в растение. Под влиянием трептолема железо и марганец сильнее накапливались в побегах.

ACCUMULATION OF HEAVY METALS IN PLANTS *BRASSICA NAPUS* L. AND *HELIANTHUS ANNUUS* L. UNDER THE INFLUENCE OF ZINC AND GROWTH REGULATOR TREPTOLEM

V.R. Hashchyshyn, O.I. Patsula, O.I. Terek

Ivan Franko Lviv National University
4 Hrushevsky St., Lviv, 79005, Ukraine

The influence of zinc ions with the new Ukrainian plant growth regulator Treptolem on the heavy metal ions content in rape and sunflower plant organs was investigated. Most of the zinc ions was accumulated in the roots of this plants. Treptolem initiated accumulation of zinc and copper ions in the roots of rape plants, and inhibited their admission in sunflower plants. We observed active accumulation of iron and manganese in shoots under influence of the plant growth regulator Treptolem.

Key words: Brassica napus L., *Helianthus annuus* L., zinc ions, Treptolem.