

20. 1
Г24

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ РОСЛИН І ГЕНЕТИКИ

ГАЩИШИН ВІРА РОМАНІВНА

УДК 581.1+631.811.98+58.02

АДАПТИВНІ РЕАКЦІЇ РОСЛИН РІПАКУ (*BRASSICA NAPUS* L.)
ТА СОНЯШНИКУ (*HELIANTHUS ANNUUS* L.)
ЗА ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ЦИНКУ І МІДІ ТА ТРЕПТОЛЕМУ

03.00.12 – фізіологія рослин

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор,
заслужений працівник освіти України
Терек Ольга Іштванівна
Львівський національний університет імені Івана
Франка, завідувач кафедри фізіології та екології
рослин

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук,
член-кореспондент НАН України
Швартау Віктор Валентинович
Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,
завідувач відділу фізіології живлення рослин

кандидат біологічних наук
Косик Оксана Іванівна
Київський національний університет імені Тараса
Шевченка, доцент кафедри фізіології та екології
рослин

Захист дисертації відбудеться «10» червня 2015 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.212.01 в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України за адресою: 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, тел. 263-51-50.

З дисертацією можна ознайомитись в науковій бібліотеці Інституту фізіології рослин і генетики НАН України за адресою: 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17.

Автореферат розісланий «15» травня 2015 р.

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради, д.б.н. **МОРДЕРЕР Є. Ю.**
Львівського державного
університету фізичної
культури

Мордерер Є. Ю.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Важкі метали (ВМ) за темпами їхнього нагромадження в біосфері та рівнем токсичності є небезпечними для фітоценозів (Fox, Guerinot, 1998; Prasad, 2004; Dubey, 2011; Alloway, 2013). Зокрема, зростання в останнє десятиліття обсягів промислового виробництва й застосування мінеральних добрив зумовило надходження у ґрунт сполук цинку та міді, які є необхідними мікроелементами, а у високих дозах негативно впливають на функціонування рослинного організму (Reichman, 2002; Broadley et al., 2007; Nagajyothi et al., 2010; Sytar, 2013). Надмірне накопичення ВМ рослинами сприяє розвитку окиснювального стресу, при якому порушується необхідна для нормального росту і розвитку рослин динамічна рівновага між функціонуванням систем антиоксидантного захисту й утворенням активних кисневих метаболітів (Колупаєв, Карпец, 2010; Blochina et al., 2003; Apel, Hirt, 2004).

У зв'язку з цим особливої актуальності набуває з'ясування шляхів підвищення адаптаційної здатності рослин до дії важких металів. Дедалі більшу увагу науковців привертає застосування регуляторів росту на основі продуктів природного походження. На сьогодні встановлено, що регулятори росту здатні підвищувати стійкість рослин до низьких і високих температур (Терек, Величко, Яворська, 2006), засолення (Таланова, Топчиева, Титов, 2003; Кузнецов, 2009 тощо). Однак необхідно детально вивчати можливість їхнього застосування в умовах впливу важких металів, зокрема на адаптацію рослин до дії токсикантів. В основі адаптації рослин до будь-яких стресових чинників є зміна низки фізіологічних і біохімічних процесів (Hall, 2002). До складу антиоксидантної системи входять ферментативні (пероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза) та низькомолекулярні (аскорбінова кислота, глутатіон) компоненти, які працюють в основному комплексно, і, як правило, зміна концентрації або активності одного антиоксиданту призводить до певних змін інших.

Останнім часом у світі й в Україні ведуться пошук і вивчення регуляторів росту різної природи. Серед них привертає увагу препарат трептолем, випуск якого налагоджено в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України (Київ) (Пономаренко, 1998). Проведення досліджень ефективності дії нових українських біологічно активних речовин має велике значення для їх впровадження у практику землеробства. У літературі відома обмежена кількість досліджень, які присвячені вивченню механізмів адаптивної дії на рослину регуляторів росту в умовах дії іонів важких металів (Чурсина та ін., 1998; Терек та ін., 2004), а даних стосовно використання препарату трептолему за таких умов немає зовсім. Мідь і цинк – надзвичайно важливі мікроелементи, необхідні для вирощування багатьох сільськогосподарських культур, проте при перевищенні норм витрати вони можуть накопичуватись у ґрунті й рослинах в надмірних кількостях. Отже, питання застосування регулятора росту трептолему з іонами цинку та міді є актуальними, що й визначило основні напрями досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках тем кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка ОБ-1756 «Роль регуляторів росту у

2013

формуванні адаптаційного потенціалу рослин до несприятливих умов довкілля» № ДР 0103U001910 та БР-03П «Механізми стійкості рослин до антропогенного забруднення ґрунтів нафтопродуктами і важкими металами» № ДР 0105U002212.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було з'ясувати механізми захисної дії регулятора росту трептолему за впливу іонів цинку та міді в рослинах ріпаку і соняшнику на ранніх етапах онтогенезу.

Для досягнення мети було поставлено такі завдання:

- ✓ виявити концентраційну залежність впливу трептолему на ростові показники рослин ріпаку та соняшнику;
- ✓ проаналізувати особливості впливу іонів цинку, міді й регулятора росту трептолему на ростові показники рослин, вміст пігментів і накопичення цинку та міді у тканинах рослин;
- ✓ визначити концентрацію пероксиду водню та ТБК-активних продуктів у коренях і пагонах рослин ріпаку та соняшнику як важливих показників окиснювального стресу;
- ✓ встановити активність антиоксидантних ферментів (пероксидази, каталази) та оцінити вміст низькомолекулярних антиоксидантів (аскорбінової кислоти, відновленого й окисненого глутатіону, фенольних сполук);
- ✓ узагальнити отримані результати для оцінки протекторної ролі регулятора росту трептолему для рослин ріпаку і соняшнику за дії іонів цинку та міді.

Об'єкт дослідження – адаптаційні реакції рослин ріпаку та соняшнику за умов впливу іонів цинку, міді та трептолему.

Предмет дослідження – комплекс фізіолого-біохімічних показників, що характеризують нагромадження важких металів, ступінь окиснювальних процесів та стан компонентів антиоксидантної системи за дії іонів важких металів та трептолему.

Методи дослідження – лабораторний, вегетаційний дослід; фізіологічні (вимірювання вмісту хлорофілів), біохімічні (визначення вмісту пероксиду водню, ТБК-активних продуктів, аскорбінової кислоти, відновленого й окисненого глутатіону, фенольних сполук, а також дослідження активності ферментів каталази та пероксидази), спектрометричні (визначення вмісту важких металів у рослинах), статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше встановлена антидотна активність препарату трептолему на рослини ріпаку та соняшнику за надлишку іонів цинку і міді на ранніх етапах онтогенезу. Отримано нові дані щодо токсичного впливу іонів цинку і міді на рослини та формування реакцій антиоксидантної системи до їхньої дії, а також експериментально охарактеризовано здатність рослин ріпаку та соняшнику поглинати з субстрату важкі метали і нагромаджувати їх у тканинах їхніх органів за дії трептолему.

Дія препарату за умов токсичного впливу сприяє накопиченню біомаси і покращенню ростових показників досліджуваних рослин. З'ясовано, що елементами адаптивної відповіді рослин на дію іонів важких металів за впливу трептолему є збільшення вмісту низькомолекулярних антиоксидантів – глутатіону, аскорбату, а також зростання активності пероксидази і каталази, зміни кількості пігментів.

Отримані результати свідчать, що в умовах дії іонів важких металів активуються різні механізми збереження прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у клітинах.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати можуть слугувати основою для розробки технологій застосування стимуляторів росту природного походження в умовах забруднення іонами важких металів. Результати проведених досліджень засвідчують високу акумулюючу здатність рослин ріпаку та соняшнику щодо іонів цинку та міді, що дає підстави запропонувати ці рослини для біологічного очищення забруднених важкими металами ґрунтів.

Показано можливість використання регулятора росту трептолему для підвищення адаптаційних можливостей рослин ріпаку та соняшнику за токсичної дії іонів цинку в концентрації 10^{-3} М та іонів міді в концентрації 10^{-5} М. Результати роботи обґрунтовують можливість використання у практиці сільського господарства препарату трептолему для підвищення стійкості рослин до дії іонів важких металів на ранніх етапах онтогенезу.

Матеріали дисертації використовуються при викладанні загальних курсів «Фізіологія та біохімія рослин», «Екологія» та спецкурсів «Ріст і розвиток рослин», «Біохімія рослин», «Стійкість рослин до несприятливих факторів довкілля» на біологічному факультеті Львівського національного університету імені Івана Франка. Отримані результати слугували основою для виконання студентами курсових і дипломних робіт.

Особистий внесок здобувача полягає у виконанні експериментальної частини дисертації, здійсненні статистичної обробки результатів, доборі та опрацюванні даних літератури за темою дисертації, аналізі й інтерпретації одержаних результатів за участю наукового керівника та співавторів, а також у підготовці публікацій до друку.

Апробація роботи. Основні положення дисертаційної роботи було висвітлено у доповідях на звітних наукових конференціях біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка (2009-2013), всеукраїнських і міжнародних наукових конференціях: IV-VIII Міжнародних наукових конференціях студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012); III і V Міжнародних конференціях молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери» (Харків, 2008, 2010); VII Всеукраїнській науковій конференції студентів, магістрів та аспірантів «Сучасні проблеми екології та геотехнологій» (Житомир, 2010); XI і XII Конференціях молодих вчених «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів» (Київ, 2010, 2012); VI Всеукраїнській науковій конференції «Проблеми та перспективи наук в умовах глобалізації» (Тернопіль, 2010); V Міжнародній конференції молодих вчених «Біорізноманіття. Екологія. Адаптація. Еволюція» (Одеса, 2011); Міжнародній конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Березне, 2011); V Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Екологічні проблеми сільськогосподарського виробництва» (Яремче, 2011); Першій конференції молодих учених «Біологія рослин та біотехнологія» (Біла Церква, 2011); II Міжнародній

конференції «Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні та генетичні аспекти» (Харків, 2011); Четвертій студентській науково-практичній конференції «Захист навколишнього середовища. Збалансоване природокористування» (Львів, 2011); X Міжнародній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Шевченківська весна 2012: біологічні науки» (Київ, 2012); Міжнародній науково-практичній Інтернет-конференції «Наука на службі сільського господарства» (Миколаїв, 2013); Другій конференції молодих учених «Біологія рослин та біотехнологія» (Київ, 2013).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 27 наукових праць, із них – 6 статей у фахових виданнях та 21 теза доповідей у матеріалах наукових конференцій.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, 3 розділів (огляд літератури, опис умов і методів проведення досліджень, результати досліджень та їхнє обговорення), підсумків, висновків. Список цитованої літератури містить 314 найменувань джерел. Дисертація викладена на 154 сторінках, ілюстрована 30 рисунками та містить 20 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У першому розділі «Огляд літератури» систематизовано й узагальнено сучасні наукові дані про механізми дії важких металів у рослинах, особливості розвитку та перебігу окиснювального стресу, індукованого іонами важких металів, проаналізовано склад і значення компонентів системи антиоксидантного захисту у рослин ріпаку та соняшнику. Також розглянуто дані щодо використання регуляторів росту і розвитку рослин у регуляції стійкості рослин до дії важких металів.

МЕТОДИ ТА УМОВИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Наші дослідження проведені на рослинах ріпаку ярого (*Brassica napus* L.) сорту Микитинецький і соняшнику (*Helianthus annuus* L.) сорту Еліт. Для дослідження впливу трептолему та іонів важких металів на рослини ріпаку та соняшнику закладали модельні досліди. Насіння пророщували на дистильованій воді та на розчині трептолему в концентрації 1 мл/л. Після цього тридобові проростки пересаджували на середовище Хогланда-Арнона I (Hoagland, Arnon, 1950), що містило сульфати цинку (10^{-3} М) і міді (10^{-2} М). Контролем слугували рослини, вирощені на розчині Хогланда-Арнона без додавання важких металів. Рослини вирощували в теплиці у контрольованих умовах. Аналізи проводили на 7-му, 14-ту та 21-шу добу росту на розчинах.

Трептолем (ТУ У 24.2-03563790-042-2001) – комплекс 2,6-диметилпіридин-1-оксид з бурштиною кислотою – 50 г/л та Емістим С – 1,0 г/л (ІБОНХ НАНУ, МНТЦ «Агробіотех», ЗАТ «Високий урожай») (Грицаєнко та ін., 2008). Збільшує врожай насіння і вміст у ньому олії, знижує ураженість рослин гнилями, підвищує їх стійкість до стресових факторів (Анішин, Пономаренко, Грицаєнко, 2011).

Ростові показники рослин визначали загальноприйнятими методами (Грицаєнко, Грицаєнко, Карпенко, 2003). Визначення індексу толерантності проводили за

формулою: $IT = \frac{\text{маса сирої речовини рослини на досліджуваному розчині}}{\text{маса сирої речовини рослини на контрольному розчині}} \times 100\%$ (Воробець, Микієвич, 2000). Вміст іонів важких металів визначали в озолоному рослинному матеріалі на атомно-абсорбційному спектрофотометрі „С-115 М1” у повітряно-ацетиленовому полум’ї. Транслокаційний фактор визначали за формулою: $TF = \frac{\text{вміст ВМ у пагонах}}{\text{вміст ВМ у коренях}}$ (Badr, Fawzy, Al-Qahtani, 2012). Активність процесів пероксидного окиснення ліпідів визначали за утворенням ТБК-активних продуктів у реакції рослинного екстракту з тіобарбітуровою кислотою (Мусієнко та ін., 2001). Вміст пероксиду водню визначали у реакції з $Ti_2(SO_4)_3$ колориметрично при довжині хвилі 410 нм (Di Torri et al., 1999). Визначення вмісту хлорофілів і каротиноїдів проводили за методом Хольм-Ветгштейна (Мусієнко та ін., 2001). Антоціани екстрагували та визначали за методом Бегс і Велман (Jaleel et al., 2009). Визначення концентрації білка проводили спектрофотометрично за допомогою кумасі блакитного G-250 при довжині хвилі 595 нм (Read, Northcote, 1981). Активність каталази визначали за зменшенням інтенсивності забарвлення комплексу пероксиду водню з молібдатом амонію (Королюк, 1988). Активність пероксидази вимірювали за інтенсивністю окиснення бензидину під дією ферменту (Гавриленко и др., 1975). Вміст аскорбінової кислоти у рослинному матеріалі оцінювали спектрофотометрично при довжині хвилі 530 нм з використанням 2,6-дихлорфеноліндофенолу. Розрахунок проводили за калібрувальним графіком (Мусієнко та ін., 2001). Вміст відновленого глутатіону аналізували за методом Лея та Касіди (Lay, Casida, 1976). Для визначення вмісту окисненого глутатіону рослинний екстракт відновлювали розчином борогідриду натрію і визначали в ньому вміст відновленого глутатіону. Вміст окисненого глутатіону визначали за різницею вмісту відновленого глутатіону, що утворився після відновлення екстракту борогідридом натрію і вмістом відновленого глутатіону, попередньо визначеним у цьому екстракті. Визначення вмісту фенолів проводили у спиртових екстрактах із рослинного матеріалу за модифікованою методикою Фоліна-Чіокальтеу (Shetty, 2004).

Досліди проводили тричі. У кожному варіанті досліду використовували по чотири біологічні повторення, а у них – по п’ять аналітичних. Результати статистично опрацьовували за допомогою програмних пакетів Microsoft Excel та Origin (Кучеренко, 2001).

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

Вплив трептолему та іонів важких металів на ріст рослин *Brassica napus* і *Helianthus annuus*. У рослин ріпаку за концентрацій 0,5 і 1 мл/л та у рослин соняшнику за концентрацій 1 і 1,5 мл/л трептолему спостерігається найбільш істотне прискорення ростових процесів та накопичення маси сирої речовини, порівняно з рослинами, вирощеними без додавання трептолему. На основі отриманих результатів нами обрана оптимальна для росту даних рослин концентрація трептолему – 1 мл/л.

За дії іонів важких металів в обох досліджуваних видів рослин пригнічується ріст кореневої системи та надземної частини. Водночас використання трептолему призводить до покращення ростових показників дослідних рослин на 20–45% порівняно з варіантами з іонами важких металів (рис. 1).

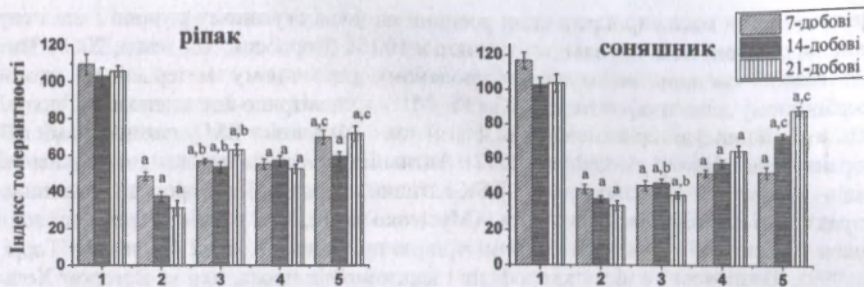


Рис. 1. Індекс толерантності (%) у пагонах рослин ріпаку та соняшнику за впливу трептолему й іонів цинку і міді: 1 – трептолем; 2 – Zn^{2+} ; 3 – Zn^{2+} + трептолем; 4 – Cu^{2+} ; 5 – Cu^{2+} + трептолем: а – достовірна різниця щодо контролю; б – достовірна різниця щодо варіанта із впливом цинку; с – достовірна різниця щодо варіанта із впливом міді при $p < 0,05$.

Вміст хлорофілів у рослинах ріпаку і соняшнику за дії іонів цинку, міді та трептолему. Адаптація та стійкість рослин значною мірою залежать від функціонування їх асиміляційного апарату, показником стану якого є вміст фотосинтетично активних пігментів. За результатами наших досліджень у рослинах ріпаку вміст хлорофілу *a* зростає за дії іонів важких металів (табл. 1). Зокрема, за дії іонів цинку на 14-ту добу росту виявлено збільшення вмісту хлорофілу *a* в 1,6 разу, а на 21-шу добу за дії іонів міді – в 1,4 разу порівняно з контролем. Водночас виявлено зниження вмісту хлорофілу *a* за впливу трептолему та іонів ВМ. Тобто дія регулятора росту призводить до нормалізації рівня пігментів. Подібна закономірність виявлена і для хлорофілу *b*.

Табл. 1. Вміст хлорофілів у рослинах ріпаку за дії іонів важких металів і трептолему (мг/г маси сирої речовини)

Варіанти	14-добові		21-добові	
	хлорофіл <i>a</i>	хлорофіл <i>b</i>	хлорофіл <i>a</i>	хлорофіл <i>b</i>
Контроль	0,068±0,003	0,020±0,002	0,078±0,002	0,023±0,002
Тр	0,075±0,004	0,022±0,003	0,074±0,003	0,027±0,001 ^a
Zn^{2+}	0,106±0,005 ^a	0,035±0,002 ^a	0,102±0,005 ^a	0,032±0,002 ^a
Zn^{2+} + Тр	0,087±0,004 ^{a, b}	0,027±0,003 ^{a, b}	0,082±0,003 ^b	0,028±0,003 ^a
Cu^{2+}	0,078±0,002 ^a	0,022±0,002	0,108±0,004 ^a	0,031±0,001 ^a
Cu^{2+} + Тр	0,091±0,004 ^{a, c}	0,026±0,001 ^{a, c}	0,094±0,003 ^{a, c}	0,028±0,001 ^{a, c}

Примітка: а, б, с – як на рис. 1.

У 14-добових рослин соняшнику за сумісної дії іонів важких металів і трептолему вміст хлорофілу *a* зростає у порівнянні з варіантами Zn^{2+} і Cu^{2+} (табл. 2). Водночас виявлено зниження вмісту даного пігменту майже в 1,5 разу у 21-добових рослин, вирощених на середовищі з іонами міді та цинку, порівняно з контрольними значеннями. За дії трептолему та іонів важких металів відмічено достовірне зростання вмісту хлорофілу *a* у 21-добових рослин ріпаку. Загалом, у досліджуваних рослин рівень пігментів залишається доволі стабільним або зростає протягом досліджу.

Табл. 2. Вміст хлорофілів у рослинах соняшнику за дії іонів важких металів і трептолему (мг/г маси сирової речовини)

Варіанти	14-добові		21-добові	
	хлорофіл <i>a</i>	хлорофіл <i>b</i>	хлорофіл <i>a</i>	хлорофіл <i>b</i>
Контроль	0,092±0,003	0,024±0,002	0,099±0,003	0,028±0,002
Тр	0,097±0,004	0,027±0,002	0,104±0,005	0,031±0,001
Zn ²⁺	0,126±0,005 ^a	0,034±0,001 ^a	0,068±0,004 ^a	0,020±0,003 ^a
Zn ²⁺ + Тр	0,140±0,004 ^{a, b}	0,040±0,003 ^{a, b}	0,079±0,003 ^{a, b}	0,023±0,001 ^a
Cu ²⁺	0,131±0,003 ^a	0,031±0,001 ^a	0,064±0,002 ^a	0,022±0,002 ^a
Cu ²⁺ + Тр	0,138±0,003 ^{a, c}	0,034±0,002 ^{a, c}	0,075±0,003 ^{a, c}	0,025±0,001

Примітка: а, б, с – як на рис. 1.

Нагромадження важких металів рослинами ріпаку і соняшнику за впливу солей цинку, міді, а також трептолему. У зв'язку з тим, що акумулююча здатність зростає з віком рослин, ми визначали вміст Zn і Cu у рослинах ріпаку та соняшнику за дії трептолему й іонів важких металів на 21-шу добу росту (табл. 3).

У рослинах ріпаку спостерігається значна акумуляція цинку в пагонах, де його концентрація у 6 разів вища, ніж у контролі, а в коренях вміст цинку збільшується в 1,6 разів щодо контролю. Отже, за даних умов іони цинку більш активно транспортуються у надземну частину рослин ріпаку. У соняшнику вміст цинку в коренях зростає в 1,7 разів, а в пагонах – удвічі, порівняно з контролем.

Табл. 3. Вплив трептолему та іонів важких металів на вміст цинку і міді у 21-добових рослин ріпаку та соняшнику (мкг/г маси сирової речовини)

Варіанти	<i>Brassica napus</i> L.		<i>Helianthus annuus</i> L.	
	пагони	корені	пагони	корені
	Zn²⁺			
Контроль	311,4±6,2	1128,4±22,6	410,1±8,2	707,4±14,2
Тр	434,2±8,7 ^a	1064,5±21,3 ^a	550,7±11,0 ^a	660,7±13,2 ^a
Zn ²⁺	1772,7±35,5 ^a	1861,1±37,2 ^a	835,3±16,7 ^a	1191,1±23,8 ^a
Zn ²⁺ + Тр	1377,9±27,6 ^{a, b}	2282,4±45,6 ^{a, b}	770,3±15,4 ^{a, b}	1310,1±26,2 ^{a, b}
	Cu²⁺			
Контроль	33,0±0,7	120,0±2,3	7,2±0,1	49,0±0,2
Тр	28,8±1,0 ^a	65,7±1,3 ^a	13,3±0,3 ^a	27,6±0,6 ^a
Cu ²⁺	154,2±3,1 ^a	3343,0±66,9 ^a	146,5±3,9 ^a	1542,4±30,9 ^a
Cu ²⁺ + Тр	108,6±2,2 ^{a, c}	2149,2±43,0 ^{a, c}	105,2±2,1 ^{a, c}	1503,4±28,9 ^a

Примітка: а, б, с – як на рис. 1.

Функціонування фізіологічного бар'єру на межі корінь-стебло, яке вважається одним із найефективніших способів захисту фотосинтетичного апарату рослин від контакту з важкими металами, спостерігається у рослин ріпаку та соняшнику за сумісної дії іонів цинку та регулятора росту трептолему. Зокрема, у рослинах ріпаку за впливу трептолему й іонів цинку виявлено підвищення вмісту цинку в коренях на 23%, тоді як у пагонах його вміст знижується на 22% порівняно з варіантом лише з іонами цинку. У рослинах соняшнику виявлено подібну тенденцію щодо накопичення іонів цинку. Варто зазначити, що концентрація іонів цинку в коренях досліджуваних рослин зростає в 1,7 разу порівняно з пагонами. Тобто за дії трептолему цинк більшою мірою акумулюється в кореневій системі рослин. Можливо, за впливу трептолему система

апопласту рослин ріпаку та соняшнику діє як акумулююча система і, таким чином, зумовлює стійкість рослин до дії важких металів.

Результати наших досліджень показали, що у рослинах відбувається значна акумуляція міді в коренях, де вміст Cu^{2+} у 22 рази є вищим, ніж у надземній частині рослин, та у 28 разів вищим щодо контролю. У соняшнику вміст міді в коренях перевищує вміст цього елемента у пагонах в 11 разів, а контрольні показники – у 31 раз. Сумісна дія трептолему та іонів важких металів призводить до суттєвого зменшення концентрації міді як у коренях, так і у пагонах досліджуваних рослин. Таким чином, вплив регулятора знижує надходження міді в рослини. Таку реакцію рослинного організму на вплив трептолему можна вважати наслідком діяльності захисних механізмів, хоча запуск таких механізмів до кінця не з'ясований і потребує подальшого дослідження.

Загалом, аналізуючи вміст важких металів у тканинах, чітко спостерігаються відмінності між впливом іонів цинку та міді. Так, у рослин ріпаку та соняшнику активується транспорт іонів цинку в надземну частину рослин, тоді як іони міді істотніше акумулюються у коренях. Вплив трептолему суттєво знижує надходження іонів міді в рослинний організм, можливо, через активування бар'єрних механізмів. Також зростає вміст цинку в коренях порівняно з пагонами, тобто трептолем блокує надходження металів у пагони рослин. Регулятор росту сприяє формуванню фізіологічного бар'єру на межі корінь-стебло для цинку.

Вплив іонів важких металів і трептолему на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у тканинах рослин *Brassica napus* і *Helianthus annuus*. До ранніх реакцій організму на дію стресорів належать посилення утворення АФК і активація ПОЛ. На 21-шу добу росту у варіанті Zn^{2+} вміст ТБК-активних продуктів зростає в 1,1 та 1,4 разу, тоді як у варіанті Cu^{2+} – в 1,7 та 1,5 разу у коренях і пагонах рослин ріпаку відповідно порівняно з контрольними значеннями (рис. 2). Застосування регулятора росту трептолему за умов дії іонів цинку та міді сприяє деякому зниженню інтенсивності ПОЛ. У варіанті Zn^{2+} + трептолем рівень ТБК-активних продуктів був нижчим в 1,5 разу, ніж у контролі.

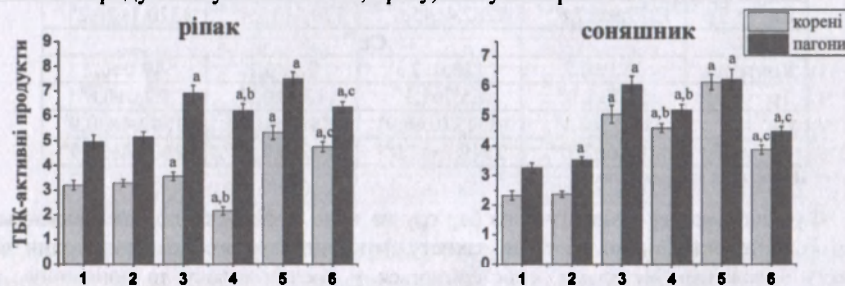


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів у органах 21-добових рослин ріпаку та соняшнику за сумісної дії іонів ВМ і трептолему (моль/г маси сирої речовини): 1 – контроль; 2 – трептолем; 3 – Zn^{2+} ; 4 – Zn^{2+} + трептолем; 5 – Cu^{2+} ; 6 – Cu^{2+} + трептолем.

Примітка: а, б, с – як на рис. 1.

У рослин соняшнику нами виявлено зміни, подібні до тих, що були у рослин ріпаку. Високий рівень процесів ПОЛ у клітинах і тканинах може, з одного

боку, свідчити про пошкодження, а з іншого – бути індуктором захисних реакцій. Хоча механізм запуску антиокиснювальних механізмів до кінця не з'ясований, фактом залишається підвищення антиоксидантної активності під впливом наростання інтенсивності окиснювальних процесів у клітині.

Отже, продукти ПОЛ, що утворюються у значній кількості, індуюють відповідні захисні механізми. У цей момент рослинний організм переходить у стан захисту. І саме цим можна пояснити зміни активності антиоксидантних ферментів, які спрямовані на зниження окиснювального стресу та формування стійкості рослин. Варто зазначити, що загалом розвиток окиснювальних реакцій у рослинах ріпаку та соняшнику відбувається за подібним механізмом, в той час як відповідь антиоксидантної системи на дію іонів важких металів є різною залежно від рослини.

Активність антиоксидантних ферментів та вміст аскорбату і глутатіону за дії іонів важких металів і трептолему в рослинах ріпаку. Наші результати засвідчують, що за дії іонів цинку активність каталази у коренях і пагонах рослин ріпаку суттєво не змінюється щодо контролю (рис. 3). За сумісної дії регулятора росту й іонів цинку активність даного ферменту також зберігається на рівні контрольних показників. При збільшенні тривалості експозиції до 14 діб зафіксовано зниження рівня каталазної активності в коренях і пагонах рослин. Показано, що використання трептолему зумовлює суттєве зростання активності ензиму в кореневій системі рослин. Так, у коренях ріпаку активність каталази збільшується у 2 рази щодо варіанта з цинком і на 24% щодо контрольних показників.

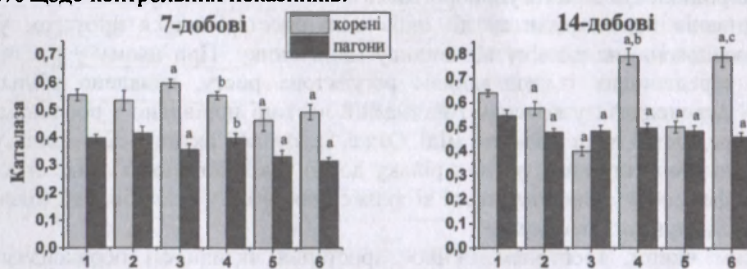


Рис. 3. Вплив іонів важких металів і трептолему на активність каталази у рослин ріпаку (мкмоль/мг білка хв): позначення ті ж, що й на рис. 2.

а, b, c – як на рис. 1.

Іони міді викликали подібні зміни щодо активності каталази. У 14-добових рослин в умовах сумісної дії іонів важких металів і трептолему активність каталази у коренях зростає на 23% щодо контролю та на 57% щодо варіанта з іонами міді. Загалом активність каталази за комбінованого впливу іонів ВМ та регулятора росту суттєво зростає лише у коренях рослин ріпаку, що пов'язане з інтенсивним накопиченням іонів цинку та міді саме у кореневій системі рослин.

Аналізуючи вплив іонів важких металів на активність пероксидази в органах рослин ріпаку, виявлено, що на 14-ту добу росту іони Zn^{2+} ініціюють незначне зниження активності даного ферменту у тканинах коренів, оскільки високі концентрації ВМ знижують активність ферментів за рахунок їх інактивації (рис. 4).

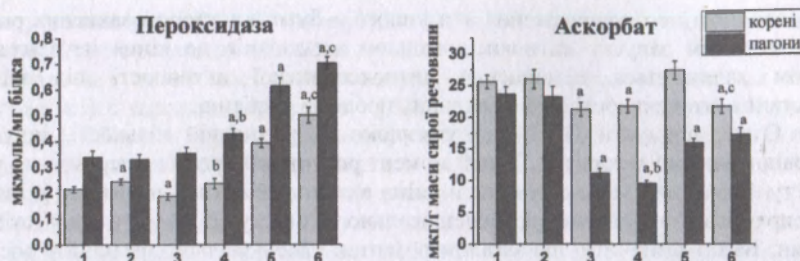


Рис. 4. Активність пероксидази (мкмоль/мг білка) та вміст аскорбінової кислоти (мкг/г маси сирової речовини) у 14-добових рослин ріпаку за дії іонів міді і цинку та трептолему: позначення ті ж, що й на рис. 2.

Прямітка: а, b, с – як на рис. 1.

За стресового впливу цинку вміст аскорбінової кислоти зменшується в 1,2 разу в коренях та у 2,1 разу в пагонах рослин. Трептолем призводить до зниження рівня аскорбату в пагонах, що відбувається на тлі зростання активності пероксидази. За даних умов відбувається окиснення аскорбінової кислоти до дегідроаскорбінової. Як відомо, в умовах стресу зменшення вмісту аскорбінової кислоти відбувається, головним чином, внаслідок збільшення кількості дегідроаскорбінової та дикетогулонової кислот.

Активация пероксидази за дії іонів міді спостерігається протягом усього періоду досліджень, на відміну від впливу іонів цинку. При цьому у рослин, які росли на середовищах із додаванням регулятора росту, виявлено збільшення активності пероксидази у коренях і надземній частині порівняно з рослинами, які росли на середовищі лише з іонами міді. Отже, трептолем активує пероксидазу, тим самим підвищуючи стійкість рослин ріпаку до дії токсичних іонів. Таке зростання активності ферменту співвідноситься зі зниженням вмісту аскорбінової кислоти у пагонах досліджуваних рослин.

Таким чином, трептолем ініціює зростання активності пероксидази, що співвідноситься зі зниженням вмісту аскорбінової кислоти у рослинах ріпаку. Це свідчить про адаптивні пристосування рослин в умовах забруднення іонами важких металів, оскільки під дією стресорів аскорбат окиснюється для нормального функціонування клітин.

Загалом, застосування трептолему зумовлює збільшення активності ензимів, що вказує на стійкість рослин до дії іонів важких металів, оскільки для стримування високих рівнів пероксидації необхідно мати більш потужну антиоксидантну систему. У рослинах ріпаку основну роль у знешкодженні токсичного пероксиду водню в коренях відіграє каталаза, а в пагонах – пероксидаза.

Також нами було показано зниження вмісту глутатіону за дії цинку та міді (табл. 4). Істотне зниження вмісту цього компонента антиоксидантної системи можна пояснити як поліфункціональністю його дії, так і надмірним його використанням в умовах стресу. Глутатіон – це попередник фітохелатинів, які зв'язують іони важких металів у клітинах, також це важливий окисно-відновний

буфер клітини, який захищає сульфгідрильні групи ферментів від дії оксидантів, забезпечуючи тим самим нормальне їх функціонування в екстремальних умовах. За сумісної дії трептолему та іонів ВМ вміст відновленого глутатіону зростає як у пагонах, так і в коренях порівняно з варіантами лише з важкими металами (на 23-29%) і контролем (на 10-15%). Очевидно, високий вміст відновленого глутатіону є одним з чинників, який обмежує розвиток окиснювальних процесів і перешкоджає нагромадженню АФК у рослин ріпаку в умовах дії важких металів. Такий ефект досягається завдяки використанню трептолему. Також у рослин ріпаку за дії іонів цинку та міді виявлено достовірне зниження концентрації окисненого глутатіону в пагонах і зростання у коренях за впливу важких металів.

Табл. 4. Зміни концентрації відновленого глутатіону (GSH), окисненого глутатіону (GSSG) та співвідношення GSH/GSSG у 7-добових рослин ріпаку за дії іонів Zn^{2+} і Cu^{2+} та трептолему (мкмоль/г маси сирової речовини)

Варіанти	GSH	GSSG	GSH/GSSG
пагони			
контроль	424,7 ± 15,8	53,9 ± 1,7	7,9
Тр	431,7 ± 21,6	58,6 ± 3,7 ^a	7,4
Zn^{2+}	352,5 ± 17,1 ^a	47,1 ± 2,1 ^a	6,9
$Zn^{2+} + Тр$	384,7 ± 13,6 ^{ab}	43,4 ± 1,3 ^{ab}	8,9
Cu^{2+}	378,2 ± 11,8 ^a	27,5 ± 1,8 ^a	13,8
$Cu^{2+} + Тр$	488,2 ± 14,2 ^{ac}	21,8 ± 1,5 ^{ac}	22,4
корені			
контроль	418,2 ± 10,3	56,2 ± 2,1	7,4
Тр	428,8 ± 15,4	58,0 ± 2,0	7,4
Zn^{2+}	368,8 ± 11,8 ^a	112,4 ± 3,4 ^a	3,3
$Zn^{2+} + Тр$	460,0 ± 17,3 ^{ab}	109,5 ± 2,5 ^a	4,2
Cu^{2+}	385,8 ± 20,2 ^a	86,9 ± 2,0 ^a	4,1
$Cu^{2+} + Тр$	472,9 ± 18,9 ^{ac}	84,5 ± 2,6 ^a	5,6

Примітка: а, b, с – як на рис. 1

відновленої та окисненої форм глутатіону в рослинах ріпаку, що вказує на індукцію трептолемом адаптивних можливостей даних рослин.

Зміни активності антиоксидантних ферментів та концентрації аскорбату і глутатіону за дії іонів важких металів та трептолему в рослинах соняшнику. На 7-му добу росту у рослин соняшнику виявлено зниження активності каталази в пагонах за дії іонів цинку та зростання в коренях за дії іонів міді порівняно з контрольними рослинами (рис. 5). Дія трептолему зумовлює зростання каталазної активності в коренях рослин – у варіанті $Zn^{2+} + трептолем$ на 48%, $Cu^{2+} + трептолем$ на 11% щодо варіантів з ВМ. Слід зазначити, що така активація каталази співвідноситься з накопиченням іонів цинку та міді в коренях рослин соняшнику. У разі більшої тривалості дії стресу (14 діб) виявлено незначне підвищення каталазної активності за дії іонів цинку, тоді як вплив іонів міді приводить до зменшення активності ензиму. Враховуючи дані літератури, це можна пояснити тим, що з ростом рослин і за дії високих концентрацій важких металів

Відомо, що співвідношення відновленої та окисненої форм глутатіону за певних умов може мати більший вплив на метаболізм клітини, ніж індивідуальний вплив кожної з них. Наприклад, підвищення співвідношення (більше 9-10) є ознакою адаптації рослин до стресового впливу. Високі співвідношення у пагонах рослин ріпаку виявлено за сумісного впливу трептолему й іонів важких металів.

Встановлено, що іони цинку та міді інгібують нагромадження глутатіону в коренях і пагонах рослин, а за дії трептолему спостерігається зростання його вмісту. За сумісного впливу трептолему й іонів важких металів виявлено високі співвідношення

включаються у роботу інші ферменти антиоксидантного захисту, які разом з каталазою розщеплюють пероксид водню.

Активність каталази за впливу іонів міді та трептолему у коренях зростає щодо варіантів з важкими металами, натомість у листках істотного ефекту регулятора на активність ензиму не виявлено. Активація антиоксидантних ферментів у рослин після оброблення регулятором, імовірно, відбувається внаслідок зумовлених ним змін в експресії генів.

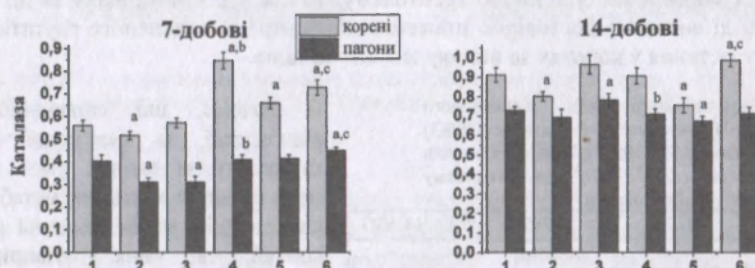


Рис. 5. Вплив іонів важких металів і трептолему на активність каталази у рослин соняшнику (мкмоль/мг білка хв): позначення ті ж, що й на рис. 2.

Примітка: а, b, с – як на рис. 1.

У рослин соняшнику виявлено підвищення активності пероксидази у варіантах з іонами міді й інгибування активності в присутності іонів цинку (рис. 6). Проте, на відміну від рослин ріпаку, активність пероксидази у пагонах є значно нижчою порівняно з коренями. Це зумовлено збільшенням вмісту іонів цинку та міді саме у коренях рослин. Зниження активності пероксидази за дії іонів цинку зумовлене інактивацією ферменту за дії токсичних іонів. На це вказує і той факт, що за цих умов рівень аскорбінової кислоти залишається стабільним, не відбувається її окиснення. У рослин, вирощених із додаванням регулятора росту трептолему, виявлено зростання активності пероксидази в пагонах і зменшення в коренях порівняно з рослинами, які росли на середовищі з іонами цинку.

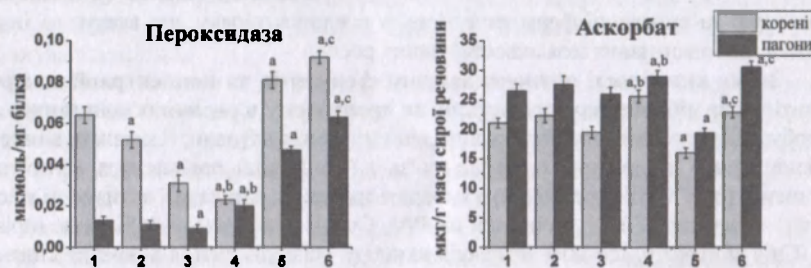


Рис. 6. Активність пероксидази (мкмоль/мг білка) та вміст аскорбінової кислоти (мкг/г маси сирої речовини) у 7-добових рослин соняшнику за дії іонів міді і цинку та трептолему: позначення ті ж, що й на рис. 2.

Примітка: а, b, с – як на рис. 1.

Збільшення активності пероксидази за дії іонів міді може відбуватися внаслідок підвищення синтезу ферменту *de novo*, змін співвідношення між його ізоформами та/або модифікації вже наявних молекул. Зростання активності даного ферменту простежується на фоні істотного зниження вмісту аскорбату, яке становить у пагонах 27%, а в коренях – 24% щодо контролю. У наших досліджах активність цього ферменту прямо співвідноситься зі зниженням рівня аскорбінової кислоти за впливу іонів міді.

Показано, що у рослин соняшнику активність каталази і пероксидази є високою лише у коренях. Можливо, у пагонах соняшнику ферментативна антиоксидантна система є малоефективною. Тому за цих умов підвищується значення низькомолекулярних неферментативних сполук. У соняшнику, на відміну від рослин ріпаку, в надземній частині вміст аскорбату є вищим порівняно з коренями. Можливо, за критичних умов головну відновну функцію виконують ензими аскорбат-глутатіонового циклу в пагонах рослин *Helianthus annuus*, оскільки активність каталази та пероксидази у надземній частині є низькою.

Також встановлено, що за дії іонів цинку та міді концентрація відновленого глутатіону знижується у рослин соняшнику (табл. 5). На нашу думку, це відбувається внаслідок збільшення окиснювальних процесів і відновлений глутатіон використовується на знешкодження АФК. Також можна припустити, що зниження вмісту відновленого глутатіону могло бути наслідком переключення шляхів метаболізму на синтез фітохелатинів.

Табл. 5. Зміни концентрації відновленого глутатіону (GSH), окисненого глутатіону (GSSG) та співвідношення GSH/GSSG у 7-добових рослин соняшнику за дії іонів Zn^{2+} і Cu^{2+} та трептолему (мкмоль/г маси сирої речовини)

Варіанти	GSH	GSSG	GSH/GSSG
пагони			
контроль	381,1 ± 12,6	75,8 ± 2,5	5,0
Tr	370,0 ± 16,9	71,5 ± 3,0	5,2
Zn^{2+}	338,2 ± 11,9 ^a	13,1 ± 0,6 ^a	25,8
$Zn^{2+} + Tr$	382,9 ± 13,8 ^b	34,3 ± 1,9 ^{ab}	11,2
Cu^{2+}	340,5 ± 10,9 ^a	51,5 ± 2,0 ^a	6,6
$Cu^{2+} + Tr$	358,2 ± 15,7	49,7 ± 2,4 ^a	7,2
корені			
контроль	328,2 ± 12,6	102,5 ± 4,1	3,2
Tr	312,3 ± 17,4	100,7 ± 3,5	3,1
Zn^{2+}	268,2 ± 11,5 ^a	80,5 ± 3,1 ^a	3,3
$Zn^{2+} + Tr$	325,2 ± 13,9 ^b	69,6 ± 2,6 ^{ab}	4,7
Cu^{2+}	302,3 ± 10,2 ^a	79,2 ± 2,5 ^a	3,8
$Cu^{2+} + Tr$	308,2 ± 13,4	82,5 ± 3,2 ^a	3,7

Примітка: а, b, с – як на рис. 1.

В умовах сумісної дії іонів Zn^{2+} і трептолему концентрація відновленого глутатіону зростає щодо варіанту Zn^{2+} і наближається до контрольних показників. Водночас за комбінованого впливу іонів міді та трептолему не виявлено змін у вмісті трипептиду. Це пов'язано з тим, що трептолем зменшує інтенсивність нагромадження іонів міді рослинами, а токсичний вплив поглинених іонів елімінується ферментативними компонентами антиоксидантної системи і зміни концентрації глутатіону за даних умов не є доцільними. За концентрації цинку $10^{-3}M$ вміст окисненої форми глутатіону в пагонах 7-добових рослин соняшнику знижується в 6 разів щодо контролю.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Загальне забруднення навколишнього середовища в результаті антропогенного впливу зробило проблему адаптації та стійкості рослин однією з головних у фізіології рослин. Для зниження дії стресових чинників природного й антропогенного походження використовують регулятори росту рослин, які мають властивості адаптогенів. На особливу увагу заслуговують препарати, створені в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України на основі N-окиснених піридинових сполук, зокрема трептолем.

Отже, результатом негативного впливу іонів цинку та міді на рослини ріпаку і соняшнику є активація пероксидного окиснення ліпідів, що призводить до порушення рівноваги в системі прооксиданти→антиоксиданти і супроводжується розвитком окиснювального стресу. Аналізуючи вміст важких металів у тканинах, чітко спостерігаються відмінності між впливом іонів цинку та міді. Так, у рослин ріпаку та соняшнику активується транспорт іонів цинку в надземну частину рослин, тоді як іони міді переважно акумулюються в коренях. Процес адаптації рослин до стресових умов існування включає активну участь компонентів ферментативної системи захисту, які відіграють важливу роль у захисних реакціях рослин.

Регулятор росту трептолем ініціює мобілізацію певних захисних антиоксидантних систем, оскільки його застосування сприяє зниженню вмісту ТБК-активних продуктів і призводить до стимулювання росту рослин порівняно з контролем. Вплив трептолему суттєво знижує надходження іонів міді в рослинний організм, можливо, через активування бар'єрних механізмів. Також зростає вміст цинку в коренях порівняно з пагонами, тобто трептолем блокує надходження металів у пагони рослин. Механізм детоксикації металів у рослині, мабуть, визначається утворенням комплексів іонів важких металів з бурштиною кислотою (одна зі складових частин трептолему), що сприяє зниженню проникності металів крізь мембрани клітин, їх депонуванню у вакуолях. Результати проведених досліджень свідчать про доцільність використання регулятора росту трептолему для зменшення негативного впливу іонів цинку та міді на рослини ріпаку і соняшнику.

ВИСНОВКИ

Наші дослідження показують, що за дії трептолему й іонів цинку та міді активується функціонування антиоксидантної системи, що є одним із важливих механізмів захисту в умовах стресу і визначає толерантність до токсичного впливу важких металів. Це можна розглядати як протекторний механізм, котрий запобігає стресовому вільнорадикальному окисненню та сприяє виживанню рослин у несприятливих умовах середовища. У рослин *Brassica napus* L. і *Helianthus annuus* L. функціонують різні механізми для підтримання окиснювальних процесів на стабільному рівні, що засвідчує видоспецифічність адаптивних реакцій за дії іонів цинку та міді.

1. Вперше встановлено, що регулятор росту трептолем проявляє антидотну активність за токсичної дії іонів цинку та міді, яка характеризується відновленням ростових показників та збереженням вмісту хлорофілу.

2. Захисна дія трептолему пов'язана зі змінами у надходженні та розподілі іонів важких металів. Понад 80% поглинутих рослинами іонів міді акумулюється в коренях досліджуваних рослин, а іонів цинку – в пагонах. У ріпаку та соняшнику трептолем ініціює нагромадження іонів цинку в коренях з одночасним активуванням бар'єрних механізмів на межі корінь-стебло. Також регулятор росту інгібує надходження іонів міді у рослини.
3. Трептолем посилює в досліджуваних рослинах систему антиоксидантного захисту, що зменшує інтенсивність реакцій ПОЛ, ініційованих впливом іонів цинку та міді. При цьому у рослин ріпаку та соняшнику функціонують різні механізми для підтримання окиснювальних процесів на стабільному рівні, відповідно, видоспецифічною є захисна дія трептолему.
4. За комбінованого впливу іонів важких металів і регулятора росту в рослинах ріпаку суттєво зростає активність каталази у коренях. Трептолем також ініціює зростання активності пероксидази, що співвідноситься зі зниженням вмісту аскорбінової кислоти.
5. Встановлено, що іони цинку та міді інгібують нагромадження глутатіону в коренях і пагонах ріпаку на 12-17%, а за дії трептолему спостерігається зростання його вмісту на 30%.
6. У рослин соняшнику за дії трептолему й іонів цинку та міді активність каталази і пероксидази є високою лише в коренях, тоді як у пагонах основними компонентами антиоксидантної системи є низькомолекулярні неферментативні сполуки. За дії трептолему рівень аскорбінової кислоти підвищується на 30-58%, а концентрація відновленого глутатіону, яка знижується внаслідок токсичної дії іонів важких металів, зростає практично до рівня контролю.
7. Показано, що в умовах токсичного впливу іонів цинку та міді й за дії трептолему в рослинах ріпаку та соняшнику активізуються адаптивні процеси, в результаті чого вони без значних пошкоджень переносять дію іонів металів. Це свідчить про антидотні властивості досліджуваного регулятора росту трептолему в рослинах ріпаку та соняшнику.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бакун (Гащишин) В.Р. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у рослин соняшнику та ріпаку за дії трептолему в умовах токсичного впливу іонів цинку та міді / В.Р. Бакун, О.І. Пацула, О.І. Терек // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2011. – Вип. 55. – С. 194-200.
2. Hashchyshyn V. Glutathione and ascorbate accumulation of rape plants (*Brassica napus* L.) under influence of heavy metals and Treptolem / V. Hashchyshyn, O. Patsula, O. Terek // Visnyk of the Lviv University. Series Biology. – 2012. – Issue 58. – P. 286–291.
3. Гащишин В. Вплив іонів важких металів і регулятора росту трептолему на загальний вміст фенольних сполук у рослинах ріпаку та соняшнику / В. Гащишин, О. Грохольська, О. Пацула, О. Терек // Біологічні студії. – 2012. – Т. 6, №1. – С. 109–116.

4. Гащишин В.Р. Вплив іонів цинку, міді і трептолему на вміст пероксиду водню й активність каталази та пероксидази рослин *Brassica napus* L. / В.Р. Гащишин, О.І. Пацула, О.І. Терек // Український ботанічний журнал. – 2012. – Т.69, №5. – С. 107-114.
5. Гащишин В.Р. Адаптивні зміни пігментного комплексу рослин *Helianthus annuus* L. за дії іонів цинку і міді та регулятора росту трептолему / В.Р. Гащишин, О.І. Пацула, О.І. Терек // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. – 2012. – Вип. 32. – С.186-191.
6. Гащишин В.Р. Накопичення важких металів у рослинах *Brassica napus* L. та *Helianthus annuus* L. під впливом солей цинку та регулятора росту // В.Р. Гащишин, О.І. Пацула, О.І. Терек / Фізіологія рослин та генетика. – 2014. – Т. 46, № 4. – С. 343-350.
7. Бакун (Гащишин) В.Р. Протекторна роль трептолему у рослин ріпака та соняшника за дії іонів свинцю / В.Р. Бакун, О.Р. Ковальська, О.І. Пацула // Молодь і поступ біології: збірник тез IV Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів. – Львів, 2008. – С. 373-374.
8. Бакун (Гащишин) В.Р. Оксидантний стрес у рослин ріпаку за дії важких металів та трептолему / В.Р. Бакун, О.І. Пацула// Біологія: від молекули до біосфери: матеріали III Міжнародної конференції молодих науковців. – Х.: СПД ФО Михайлов Г.Г., 2008. – С. 266-267.
9. Бакун (Гащишин) В.Р. Вміст пероксиду водню та активність пероксидази у рослинах ріпаку за сумісної дії свинцю та трептолему / В.Р. Бакун, О.І. Пацула // Молодь і поступ біології: збірник тез V Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів. – Львів, 2009. – С. 184-185.
10. Бакун (Гащишин) В.Р. Екофізіологічні дослідження впливу важких металів на рослини / В.Р. Бакун, О.І. Пацула, О.І. Терек // Тези VII Всеукраїнської наукової конференції студентів, магістрів та аспірантів “Сучасні проблеми екології та геотехнологій” (том 1). – Житомир: ЖДТУ, 2010. – С. 168-169.
11. Бакун (Гащишин) В.Р. Вплив іонів важких металів та трептолему на вміст пероксиду водню у рослин ріпаку і соняшнику // В.Р. Бакун, О.І. Пацула, О.І. Терек // Молодь і поступ біології: збірник тез VI Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів. – Львів, 2010. – С. 196–197.
12. Бакун (Гащишин) В.Р. Вплив трептолему на ростові параметри рослин ріпаку та соняшнику за дії іонів цинку та міді // В.Р. Бакун, О.І. Пацула, О.І. Терек // Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів: матеріали XI конференції молодих вчених. – К., 2010. – С. 15–17.
13. Бакун (Гащишин) В.Р. Стан перекисного окиснення ліпідів у проростках ріпаку та соняшнику за сумісної дії регулятора росту та іонів важких металів / В.Р. Бакун, О.І. Пацула // Біологія: від молекули до біосфери: матеріали V Міжнародної конференції молодих науковців. – Х.: Оперативна поліграфія, 2010. – С. 253-254.
14. Бакун (Гащишин) В.Р. Фіторемерація: поглинання і детоксифікація важких металів / В.Р. Бакун, О.І. Пацула, О.І. Терек // Проблеми та перспективи наук в

- умовах глобалізації: матеріали VI Всеукраїнської наукової конференції. – Ч. II: Фізичне виховання, фізика, інформатика, математика, техніка, біологія, хімія. – Тернопіль: ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2010. – С. 60-61.
15. Бакун (Гащишин) В. Стан пігментної системи рослин ріпаку за дії іонів важких металів та регулятора росту / В. Бакун, О. Пацула, О. Терек // Молодь і поступ біології: збірник тез VII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів. – Львів, 2011. – С. 310–311.
16. Bakun (Hashchyshyn) V. Lipid peroxidation intensity in rape plants under influence of heavy metals (zinc, copper) and growth regulator Treptolem / V. Bakun, O. Patsula, O. Terek // Proceedings of the V International Young scientists conference «Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution» dedicated to 160 anniversary from the birth of professor Frants Kamenskiy. – Odesa: Pechatniy Dom, 2011. – P. 119-120.
17. Бакун (Гащишин) В.Р. Пероксидазна активність рослин ріпаку за дії регулятора росту та іонів цинку і міді / В.Р. Бакун, О.І. Пацула, О.І. Терек // Актуальні проблеми ботаніки та екології: матеріали міжнародної конференції молодих учених. – К.: ТОВ «Лазурит-Поліграф», 2011. – С. 162-163.
18. Бакун (Гащишин) В.Р. Особливості впливу трептолему на ріст рослин соняшнику за дії іонів цинку та міді / В.Р. Бакун, О.І. Пацула, О.І. Терек // Екологічні проблеми сільськогосподарського виробництва: матеріали V Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених. – Яремче, 2011. – 140 с.
19. Бакун (Гащишин) В. Оцінка вмісту антоціанів у рослин ріпаку за дії іонів важких металів та регулятора росту трептолему / В. Бакун, О. Пацула, О. Терек // Біологія рослин та біотехнологія: збірник тез Першої конференції молодих учених (з міжнародною участю). – Біла Церква, 2011. – С. 39.
20. Бакун (Гащишин) В. Вплив іонів важких металів та регулятора росту трептолему на пігментну систему рослин соняшнику / В. Бакун, О.Пацула, О.Терек // Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні та генетичні аспекти: 2-га міжнародна конференція. – Х., 2011. – С.95-96.
21. Грохольська О. Каталаза як компонент антиоксидантної системи рослин за дії іонів важких металів та регулятора росту трептолему / О. Грохольська, В. Гащишин, О. Терек // Захист навколишнього середовища. Збалансоване природокористування: матеріали Четвертої студентської науково-практичної конференції. – Львів, 2011. – С. 44-46.
22. Гащишин В. Вміст аскорбінової кислоти у рослинах ріпаку та соняшнику за сумісної дії іонів важких металів та регулятора росту трептолему / В. Гащишин, О. Пацула, О. Терек // Молодь і поступ біології: збірник тез VIII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів. – Львів, 2012. – С. 305–306.
23. Грохольська О. Особливості впливу трептолему на вміст фенольних сполук у рослин ріпаку та соняшнику за дії іонів важких металів / О. Грохольська, В. Гащишин, О. Терек // Молодь і поступ біології: збірник тез VIII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів. – Львів, 2012. – С. 306–307.
24. Гащишин В.Р. Акумуляція глутатіону в разі адаптації рослин соняшнику та ріпаку до впливу іонів важких металів за дії регулятора росту

- трептолему / В.Р. Гащишин, О.І. Пацула // Шевченківська весна 2012: біологічні науки: матеріали Х Міжнародної науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених. – К., 2012. – С. 76-77.
25. Гащишин В.Р. Оксидантний статус рослин ріпаку за дії іонів важких металів та регулятора росту трептолему / В.Р. Гащишин, О.І. Пацула, О.І. Терек // Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів: матеріали XII конференції молодих вчених. – К., 2012. – С. 42-44.
26. Гащишин В.Р. Роль регуляторів росту у захисних реакціях рослинного організму за дії іонів важких металів / В.Р. Гащишин, О.І. Пацула // Наука на службі сільського господарства: міжнародна науково-практична Інтернет-конференція. – Миколаїв, 2013. – С. 173-174.
27. Гащишин В.Р. Вміст деяких важких металів у рослинах *Brassica napus* L. за впливу іонів цинку та регулятора росту трептолему / В.Р. Гащишин, О.І. Пацула, О.І. Терек // Біологія рослин та біотехнологія: збірник тез Другої конференції молодих учених. – К., 2013. – С. 44.

АНОТАЦІЯ

Гащишин В. Р. Адаптивні реакції рослин ріпаку (*Brassica napus* L.) та соняшнику (*Helianthus annuus* L.) за дії важких металів цинку і міді та трептолему. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.12 – фізіологія рослин. Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. – Київ, 2015.

Дисертація присвячена дослідженню впливу регулятора росту трептолему на ступінь окиснювальних процесів, нагромадження важких металів і стан компонентів антиоксидантної системи у рослин ріпаку та соняшнику за дії іонів цинку та міді.

Показано, що у рослин ріпаку та соняшнику активується транспорт іонів цинку в надземну частину рослин, тоді як іони міді переважно акумулюються у коренях. Вплив трептолему суттєво знижує надходження іонів міді в рослинний організм, можливо, через активування бар'єрних механізмів. Також зростає вміст цинку в коренях порівняно з пагонами, тобто трептолем блокує надходження металів у пагони рослин. Використання регулятора росту інгібує ініційоване іонами цинку та міді зростання активності ПОЛ у досліджуваних рослинах.

Трептолем ініціює посилення роботи систем антиоксидантного захисту за впливу іонів важких металів. Зокрема, у кожного виду рослин це проявляється по-різному. У рослин ріпаку трептолем ініціює зростання активності пероксидази, що корелює зі зниженням вмісту аскорбінової кислоти, тоді як активність каталази суттєво зростає лише у коренях. Також показано, що іони цинку та міді інгібують нагромадження глутатіону в коренях і пагонах рослин, а за дії трептолему спостерігається зростання його вмісту. Виявлено, що у рослин соняшнику за дії трептолему активність каталази і пероксидази є високою лише у коренях, тоді як у пагонах основними компонентами антиоксидантної системи є низькомолекулярні

неферментативні сполуки. Зокрема, збільшується рівень аскорбінової кислоти і концентрація відновленого глутатіону. Одержані результати дають підставу вважати, що за сумісної дії іонів цинку і міді та трептолема у рослинах ріпаку та соняшнику відбувається активізація адаптивних процесів.

Ключові слова: трептолем, іони цинку і міді, окиснювальний стрес, антиоксидантна система, адаптивні реакції, *Brassica napus* L., *Helianthus annuus* L.

АННОТАЦІЯ

Гащншин В. Р. Адаптивные реакции растений рапса (*Brassica napus* L.) и подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) при действии тяжелых металлов цинка, меди, а также трептолема. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.12 – физиология растений. *Институт физиологии растений и генетики НАН Украины. – Киев, 2015.*

Диссертация посвящена исследованию влияния регулятора роста трептолема на степень окислительных процессов, аккумуляцию тяжелых металлов и содержание компонентов антиоксидантной системы у растений рапса и подсолнечника под влиянием ионов цинка и меди.

Показано, что у растений рапса и подсолнечника активируется транспорт ионов цинка в надземную часть растений, тогда как ионы меди преимущественно аккумулируются в корнях. Влияние трептолема существенно снижает поступление ионов меди в растение, возможно, из-за активации барьерных механизмов. Также возрастает содержание цинка в корнях по сравнению с побегами. Регулятор роста в сочетании с ионами тяжелых металлов несколько снижает интенсивность ПОЛ.

Трептолем инициирует усиление работы систем антиоксидантной защиты под влиянием ионов тяжелых металлов. В частности, у растений рапса трептолем инициирует рост активности пероксидазы, что коррелирует со снижением содержания аскорбиновой кислоты, тогда как активность каталазы существенно возрастает только в корнях. Также показано, что ионы цинка и меди ингибируют накопление глутатиона в корнях и побегах растений, а при действии трептолема наблюдается возрастание его содержания. Выявлено, что у растений подсолнечника при действии трептолема активность каталазы и пероксидазы высока только в корнях, тогда как в побегах основными компонентами антиоксидантной системы являются низкомолекулярные соединения. В частности, увеличивается уровень аскорбиновой кислоты и концентрация восстановленного глутатиона. На основании проведенных исследований можно утверждать, что под влиянием ионов цинка и меди, а также трептолема у растений рапса и подсолнечника происходит активация адаптивных процессов.

Ключевые слова: трептолем, ионы цинка и меди, оксидативный стресс, антиоксидантная система, *Brassica napus* L., *Helianthus annuus* L.

SUMMARY

Haschyshyn V. R. Adaptive responses of rape (*Brassica napus* L.) and sunflower plants (*Helianthus annuus* L.) under influence of zinc and copper heavy metals and Treptolem. – Manuscript.

Thesis for a Phd degree in Biology, speciality 03.00.12 – Plant Physiology. *Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine. – Kyiv, 2015.*

The thesis is devoted to the investigation of plant growth regulator Treptolem influence on accumulation of heavy metals, the oxidation processes, and antioxidant system state of rape and sunflower plants under influence of zinc and copper ions.

Growth regulator increase plants resistance to adverse factors. As a result of this activity, they increasing of biomass accumulation, and therefore they more widely used nutrients, increasing the protective properties of plants. Today much attention is paid to the development of new growth regulators. Ukrainian regulator Treptolem – an effective composition of plant growth regulators which increase the productivity of sunflower and rape plants. Treptolem initiates growth processes (in particular, increase of plant height, weight of shoots and roots) in *Brassica napus* and *Helianthus annuus* plants under zinc and copper stress. It has been observed, that zinc ions perform more actively in stem part of the plants rape and sunflower, whereas copper ions are accumulated mainly in their roots. Treptolem reduces significantly copper ions inflow into plants, due to activation barrier mechanisms. Also, we observe increase of zinc ions in roots in regard to stem. It means that Treptolem can block metal translocation into plant's stems. Treptolem could be used as effective antistress factor since as a result of its influence we marked decrease of LP-products content.

Treptolem initiates intensification of antioxidant systems performance as the plants reaction to heavy metal ions activity. In case of rape, Treptolem causes growth peroxidase activity, which correlates with decrease of ascorbic acid content, while catalase behaves significantly intensively only in the roots of the plants.

The experiment has also proved that ions of zinc and copper inhibit accumulation of glutathione in roots and stems of plants, Treptolem causes glutathione increase. In case of sunflower, Treptolem intensifies the activity of catalase and peroxidase mainly in the roots, while in the shoots the major components of antioxidant system is low molecular compounds. For instance, we observe the increase of ascorbic acid and concentration of regenerated glutathione. We established that Treptolem launched mechanism protecting plants and reducing negative effects of reactive oxygen species. The main defense mechanism is activation of antioxidants.

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: Treptolem, zinc and copper ions, oxidative stress, antioxidant system, adaptive response, *Brassica napus* L., *Helianthus annuus* L.