

УДК 633.15:58.04:581.142:547.587

НАКОПИЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ПРОРОСТКАХ КУКУРУДЗИ ЗА ТОКСИЧНОЇ ДІЇ КОМБІНАЦІЙ АЦЕТОХЛОРУ ТА ІОНІВ КАДМІЮ

© 2009 р. С. А. Шемет

*Науково-дослідний інститут біології
Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара
(Дніпропетровськ, Україна)*

Досліджували зміни фенольного обміну кукурудзи за комбінованого впливу ацетохлору та іонів кадмію з використанням методу планованого факторного експерименту. Встановлено зростання вмісту розчинних фенолів у коренях. Виявлена стимуляція накопичення ціанідину за комбінованого впливу факторів та переважний вплив кадмію порівняно із ацетохлором на цей процес.

Ключові слова: *Zea mays L., ацетохлор, кадмій, фенольні сполуки*

За умов забруднення середовища комплексом поллютантів постає проблема оцінювання їх комбінованого впливу на рослинний організм. До ксенобіотиків, здатних модифікувати процеси розвитку рослин, належать залишкові кількості пестицидів (Zimdahl, 2007). Хлорацетаніліди, які використовують для пригнічення проростання бур'янів, класифікують як інгібітори біосинтезу довголанцюгових жирних кислот (Weed ..., 2002). Однак, незважаючи на тривалий термін застосування гербіцидних препаратів цього класу, багато аспектів їх впливу на рослини залишаються нез'ясованими (Мордерер, 2001; Weed ..., 2002; Zimdahl, 2007).

Нині набуває актуальності проблема модифікації активності гербіцидів іншими сполуками (Швартау, 2003). До ксенобіотиків, що характеризуються значним біологічним ефектом, належать важкі метали (Гуральчук, 2006). Кадмій є одним з найтоксичніших металів. Нині з'являються дані, що відомі метаболічні реакції за участю метал-хелатуючих пептидів (Hall, 2002) є недостатніми для пояснення толерантності рослин до важких металів (Marentes, Rauser, 2007). Раніше нами виявлено ефекти

взаємної дії ацетохлору та іонів кадмію на ацидофікуючу активність рослин (Шемет, Вінниченко, 2007).

У формуванні адаптивних реакцій рослин у відповідь на вплив біотичних і абіотичних факторів значна роль належить вторинному метаболізму, зокрема, фенольному обміну (Anthocyanins ..., 2009; Kutchan, Dixon, 2005; Winkel-Shirley, 2002). Однак їх участь у реакціях рослин на дію ксенобіотиків залишається мало дослідженою.

Мета роботи – дослідити зміни фенольного метаболізму проростків кукурудзи за комбінованого впливу ацетохлору та іонів кадмію.

МЕТОДИКА

Насіння кукурудзи (*Zea mays L.* – гібрид Промінь 170 МВ) пророщували протягом семи діб за умов модельного експерименту в рулонах фільтрувального паперу на воді (контроль) та розчинах ацетохлору (гербіцид харнес) і $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ та їх комбінаціях за температури 22-24°C (фотоперіод – 16 годин). Згідно зі схемою планованого факторного експерименту (ПФЕ) 2² (Максимов, 1980) на нижньому рівні концентрації токсикантів дорівнювали нулю, а на верхньому рівні – $20 \cdot 10^{-5}$ М для ацетохлору і $1 \cdot 10^{-5}$ М для Cd^{2+} . Додатково вивчали дію комбінації $10 \cdot 10^{-5}$ М ацетохлор + $0,5 \cdot 10^{-5}$ М Cd^{2+} як центральний варіант експерименту. Централь-

Адреса для кореспонденції: Шемет Сергій Анатолійович, НДІ біології Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара, просп. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна;
e-mail: opticl@ukr.net

ний варіант експерименту використовували у розрахунку регресивних рівнянь ПФЕ для збільшення рівнів свободи при визначенні адекватності розрахованого рівняння (Максимов, 1980), а також оцінки нелінійності поверхні відгуку, як у роботі (Шемет, Вінниченко, 2007). Напрямок і ступінь роздільного впливу токсикантів та тип взаємної дії чинників оцінювали за величиною та знаком відповідних коефіцієнтів у математичній моделі ПФЕ (Максимов, 1980).

Як інтегральний показник фізіологічного стану рослин визначали ступінь інгібування росту головного кореня. Вміст розчинних фенольних сполук у повітряно-сухих коренях (мкМ хлорогенової кислоти / г сухої речовини) визначали за методикою, описаною раніше (Феденко та ін., 2004). Визначення ціанідину проводили за екстинцією екстрактів антоціанової зони коренів в системі ізопропанол-1% HCl за довжини хвилі 530 нм у розрахунку на 1 г сирої маси коренів (A_{530}^{1r}) (Шемет, Феденко, 2005). Спектри відбиття антоціанової зони кореня вимірювали у діапазоні 350-800 нм на спектрофотометрі "Specord M 40" (Німеччина), обладнаному приставкою з фотометричною кулею і касетою для математичної обробки "Data Handling I" (Шемет, Феденко, 2005). Біологічна повторність експерименту – дворазова, аналітична: для морфометричних показників – 30-разова, для біохімічних – триразова. Поверхні відгуку будували у програмі Statistica 5.5, на графіки наносили експериментальні дані – середні значення з усіх повторень. Статистичну обробку експериментальних даних проводили на 5%-му рівні значущості, похибка вимірювань не перевищувала 5%.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено значне інгібування росту коренів (до 50%) за дії токсикантів (рис. 1). Залежність лінійного розміру кореня (l , мм) від концентрації ацетохлору (x_1) та іонів кадмію (x_2) може бути описана рівнянням:

$$l = 134,9 - 4,0x_1 - 41,5x_2 + 2,53x_1x_2, R^2 = 0,99, p < 0,05 (1),$$

яке свідчить про істотнішу негативну дію кадмію в даному діапазоні доз. Слід відзначити позитивний знак коефіцієнта при x_1x_2 , що підтверджує антагоністичний ефект взаємної дії факторів. Поверхня відгуку даного параметра на комбіновану дію факторів (рис. 1) свідчить про значну нелінійність даного процесу. З урахуванням інгібуючого роздільного впливу факто-

рів, це може свідчити про адаптацію рослин за умов комбінованої дії токсикантів.

Для дослідження можливої участі фенольних сполук в процесах адаптації до дії ксенобіотиків різної хімічної природи був визначений вміст розчинних фенолів у коренях. Встановлено залежність вмісту фенолів (С, мкМ/г) від концентрацій токсикантів та їх поєднань, яка описується рівнянням:

$$C = 101,37 + 0,89x_1 + 2,96x_2 - 0,07x_1x_2, R^2 = 0,93, p < 0,05 (2).$$

Неоднозначність змін фенольного метаболізму в стресових умовах, яка характерна і для окремого впливу ацетохлору (Феденко та ін., 2004) та іонів кадмію (Шемет, Феденко, 2005), зумовлює складний характер розташування дослідних точок у факторному просторі (рис. 2). Загальною тенденцією впливу як ацетохлору, так і кадмію є стимуляція фенольного метаболізму, що узгоджується з нашими попередніми даними (Феденко та ін., 2004; Шемет, Феденко, 2005). Водночас слід відзначити від'ємний знак коефіцієнта при x_1x_2 рівняння (2). Це зумовлює прояв насичення у зростанні показника за комбінованої дії токсикантів (рис. 2). Привертає увагу протилежність знаків відповідних коефіцієнтів залежностей росту коренів (рівняння 1) та нагромадження фенольних сполук (рівняння 2), що може бути підтвердженням ролі простих фенолів як інгібіторів росту органів аналогічно тенденції, встановленій для окремого впливу ацетохлору (Феденко та ін., 2004).

Досліджували нагромадження коренями одного з кінцевих продуктів метаболізму – антоціанового пігменту ціанідину. Залежність вмісту пігменту (A_{530}^{1r}) може бути описана рівнянням:

$$A_{530}^{1r} = 0,1485 - 0,0037x_1 + 0,1957x_2 - 0,0099x_1x_2, R^2 = 0,99, p < 0,05 (3).$$

Дане рівняння свідчить про негативний вплив ацетохлору на біосинтез пігменту та стимуляцію його нагромадження кадмієм. Вплив кадмію був більш інтенсивним. Привертає увагу нелінійність даної залежності та існування ефекту взаємодії. Тому переважною тенденцією для комбінованого впливу ксенобіотиків була стимуляція нагромадження пігменту (рис. 3). Встановлені тенденції узгоджуються з даними щодо окремого впливу цих токсикантів на біосинтез антоціанів (Феденко та ін., 2004; Шемет, Феденко, 2005). Тенденція пригнічення ацетохлором даного метаболічного шляху за умов

НАКОПИЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК

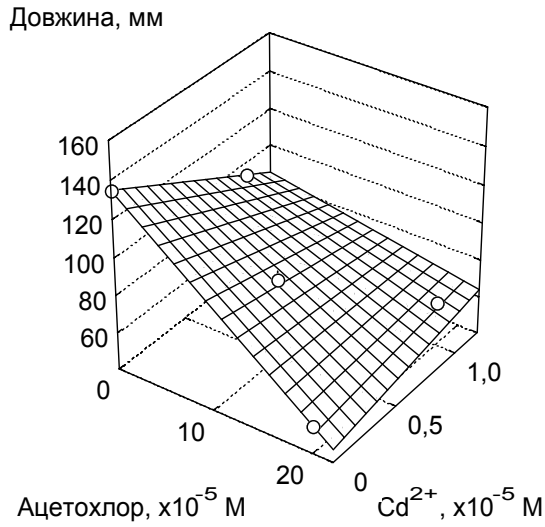


Рис. 1. Поверхня відгуку довжини коренів проростків кукурудзи за комбінованої дії ацетохлору та іонів кадмію.

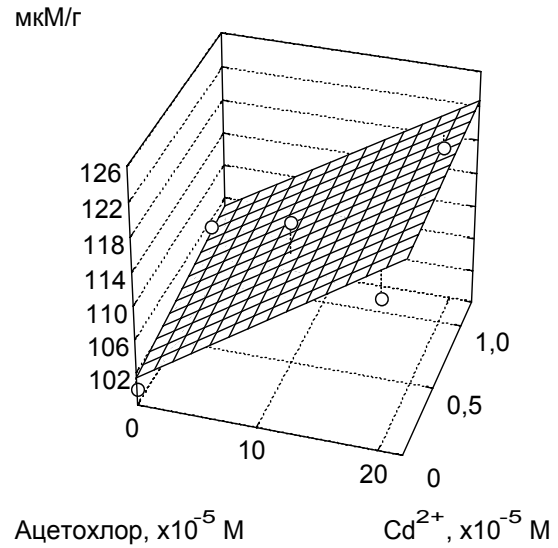


Рис. 2. Поверхня відгуку вмісту фенольних сполук в коренях проростків кукурудзи за комбінованої дії ацетохлору та іонів кадмію.

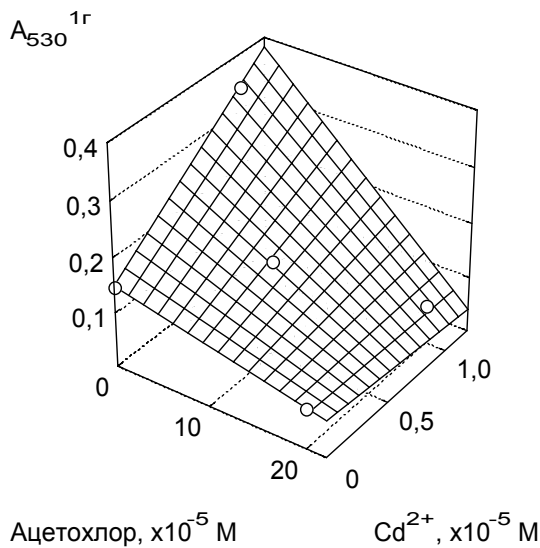


Рис. 3. Поверхня відгуку вмісту ціанідину в коренях проростків кукурудзи за комбінованої дії ацетохлору та іонів кадмію.

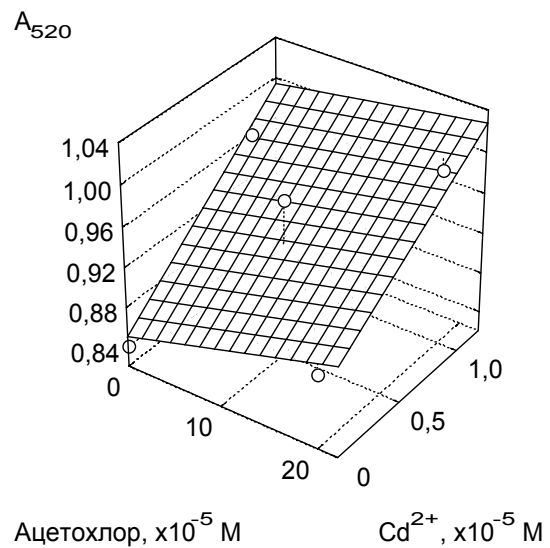


Рис. 4. Поверхня відгуку величини A_{520} спектрів відбиття коренів проростків кукурудзи за комбінованої дії ацетохлору та іонів кадмію.

комбінованої дії з металом змінюється на протилежну. Це підтверджує адаптивну роль ціанідину за умов комбінованого стресу.

Досліджено нагромадження ціанідину в поверхневих тканинах кореня неруйнівним методом спектроскопії відбиття. Інтенсивність максимуму спектрів відбиття при 520 нм (A_{520}) є маркерною для флавілієвої форми ціанідину і може слугувати для оцінки накопичення пігменту в тканинах. Залежність A_{520} від концентрацій ксенобіотиків описується рівнянням:

$$A_{520} = 0,8506 + 0,0027x_1 + 0,1200x_2 - 0,0010x_1x_2, R^2 = 0,83, p < 0,05 \quad (4)$$

Привертає увагу зростання показника як за дії кадмію, так і ацетохлору (рис. 4), хоча вплив металу залишається більш інтенсивним.

Відмінності впливу ацетохлору на нагромадження пігменту в об'ємі кореня та у поверхневих шарах, відповідно до рівнянь (3) та (4), слід пояснити, враховуючи особливості локалізації пігменту. Встановлено (Феденко та ін., 2004; Шемет, Феденко, 2005), що ціанідин ло-

калізовано у 2-3 зовнішніх клітинних шарах корової паренхіми, причому за роздільного та комбінованого його впливу локалізація не змінюється. Таким чином, за дії ацетохлору відбувається перерозподіл пігменту з переважним накопиченням у периферійних тканинах кореня, які найбільшою мірою зазнають негативного впливу екзогенних ксенобіотиків. За умов комбінованого впливу зростання даного показника відбувається більш істотно. Це є ще одним підтвердженням адаптивної ролі антоціанів у реакціях рослин на стресові впливи різної природи. Від'ємний знак коефіцієнта комбінованої дії за позитивних коефіцієнтів роздільної дії рівняння (4) свідчить про стабілізацію збільшення показника за високих доз токсикантів та їх комбінацій.

Таким чином, інгібування росту коренів за дії ацетохлору та іонів кадмію супроводжується значними змінами фенольного метаболізму проростків. Відбувається зростання як загального вмісту розчинних фенолів, так і вмісту кінцевого продукту фенольного обміну – ціанідину. Встановлена нелінійність відповідних залежностей та існування ефектів взаємної дії свідчить про складність даних процесів. Результати щодо нагромадження ціанідину, отримані різними методами, підтверджують адаптивну роль пігменту за дії ацетохлору, іонів кадмію та їх комбінацій.

ЛІТЕРАТУРА

- Гуральчук Ж.З. Фітотоксичність важких металів та стійкість рослин до їх дії. – К.: Логос, 2006. – 208 с.
- Максимов В.Н. Многофакторный эксперимент в биологии. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 280 с.
- Мордерер Е.Ю. Избирательная фитотоксичность гербицидов. – Киев: Логос, 2001. – 240 с.
- Феденко В.С., Шемет С.А., Стружко В.С. Вплив ацетохлору на нагромадження фенольних сполук у проростках кукурудзи // Физиология и биохимия культ. растений. – 2004. – Т. 36, № 5. – С. 419-426.
- Швартау В.В. Регуляція активності гербицидів за допомогою хімічних сполук. – К.: Логос, 2003. – 267 с.
- Шемет С.А., Вінниченко О.М. Комбінований вплив ацетохлору та іонів кадмію на ріст і ацидофікуючу активність проростків кукурудзи // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Серія Біологія. – 2007. – Вип. 1 (10). – С. 42-49.
- Шемет С.А., Феденко В.С. Накопичення фенольних сполук у проростках кукурудзи за токсичної дії іонів кадмію // Физиология и биохимия культ. растений. – 2005. – Т. 37, № 6. – С. 505-512.
- Anthocyanins*. Biosynthesis, functions, and applications / Gould K., Davies K., Winefield C. (Eds.). – Springer, 2009. – 330 p.
- Dixon R.A., Paiva N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism // Plant Cell. – 1995. – V. 7. – P. 1085-1097.
- Hall J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance // J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53, № 366. – P. 1-11.
- Kutchan T.M., Dixon R.A. Secondary metabolism: nature's chemical reservoir under deconvolution // Curr. Opin. Plant Biol. – 2005. – V. 8, № 3. – P. 227-229.
- Marentes E., Rauser W.E. Different proportions of cadmium occur as Cd-binding phytochelatin complexes in plants // Physiol. Plant. – 2007. – V. 131, № 2. – P. 291-301.
- Weed management handbook / Naylor R.E.L. (Ed.). – Blackwell Science, 2002. – 432 p.
- Winkel-Shirley B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress // Cur. Opin. Plant Biol. – 2002. – V. 5, № 3. – P. 218-223.
- Zimdahl R.L. Fundamentals of weed science. – Elsevier Academic Press, 2007. – 688 p.

Надійшла до редакції
14.07.2009 р.

НАКОПИЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК

PHENOLIC COMPOUNDS ACCUMULATION IN MAIZE SEEDLINGS UNDER TOXIC ACTION OF ACETOCHLOR AND CADMIUM IONS COMBINATIONS

S. A. Shemet

*Biology Research Institute
of Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University
(Dnipropetrovsk, Ukraine)*

Maize phenolic metabolism changes under combined acetochlor and cadmium ions action were investigated using experimental design. Level of soluble phenolics in roots was determined to increase. Stimulation of cyanidin accumulation was discovered and cadmium primary influence on this process was demonstrated.

Key words: *Zea mays L., acetochlor, cadmium, phenolic compounds*

НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРОРОСТКАХ КУКУРУЗЫ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ КОМБИНАЦИЙ АЦЕТОХЛОРА И ИОНОВ КАДМИЯ

С. А. Шемет

*Научно-исследовательский институт биологии
Днепропетровского национального университета им. Олесь Гончара
(Днепропетровск, Украина)*

Исследовали изменения фенольного обмена кукурузы при комбинированном действии ацетохлора и ионов кадмия с использованием метода планового факторного эксперимента. Установлено увеличение уровня растворимых фенолов в корнях. Выявлена стимуляция накопления цианидина при комбинированном действии факторов и преимущественное влияние кадмия по сравнению с ацетохлором на этот процесс.

Ключевые слова: *Zea mays L., ацетохлор, кадмий, фенольные соединения*