

УДК 577.152.311:582.542.1

І. О. Філонік, Л. Ф. Заморуєва

Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НІКЕЛЮ ТА ХРОМУ
НА СКЛАД ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ ЛІПАЗ
У ЗЕРНІ КУКУРУДЗИ ПРИ ПРОРОСТАННІ**

Вивчено вплив важких металів нікелю та хрому на фізіолого-біохімічні показники ліпідного обміну в зерні кукурудзи гібриду Блиц 160 МВ при проростанні. Виявлено редукцію вмісту загальних ліпідів більшою мірою під впливом вищих концентрацій металів і за їх спільної дії; зростання фракцій стеринів та вільних жирних кислот, але редукцію фракції фосфоліпідів за комплексної дії двох металів; при цьому у зерні під впливом токсикантів зростала активність ліпаз. Знайдені зміни складу ліпідів та активності ліпаз у зерні кукурудзи при проростанні можуть бути використані як маркерні на дію металів.

И. А. Филоник, Л. Ф. Заморуева

Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НИКЕЛЯ И ХРОМА
НА СОСТАВ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ЛИПАЗ
В ЗЕРНЕ КУКУРУЗЫ ПРИ ПРОРАСТАНИИ**

Изучено влияние тяжелых металлов никеля и хрома на физиолого-биохимические показатели липидного обмена в прорастающем зерне кукурузы гибрида Блиц 160 МВ. Выявлены редукция общих липидов, повышение содержания фракций стероидов и свободных жирных кислот, но редукция уровня фосфолипидов под действием обоих металлов, активность липаз при этом возрастала в зерне под влиянием токсикантов. Найденные изменения состава липидов и активности липаз в зерне кукурузы при прорастании могут быть использованы как маркерные на воздействие металлов на растения кукурузы.

I. O. Filonik, L. F. Zamorueva

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

**STUDY OF NICKEL AND CHROME INFLUNCE
ON LIPID CONTENT AND LIPASE ACTIVITY
IN THE GERMINATING MAIZE GRAINS**

The influence of heavy metals – nickel and chromium – on the indices of lipid metabolism in seeds of the maize hybrid Blith 160 MV at the germination was studied. The reduction of the total lipid content and phospholipids, but increase of lipases activity, sterols and free fatty acids in the germinating grains under the toxicant action were revealed. Changes in the lipids content and lipases activity in the germinating maize seeds may be used as markers of the heavy metals influence on plants.

Вступ

Інтенсивний розвиток промисловості, збільшення викидів автомобільного транспорту, а також постійне широке використання хімічних засобів у сільському гос-

подарстві призводять до зростання комплексного забруднення навколишнього середовища, а саме – ґрунтів, важкими металами та іншими токсикантами. Це шкідливо відбивається на сільськогосподарських культурах, що вирощуються з поширеним унесенням пестицидів, мінеральних добрив та інших засобів захисту та прискорення розвитку рослин. Дію всіх хімічних сполук і сумішей на культурні рослини необхідно глибоко досліджувати з метою підвищення врожайності зернових і одержання екологічно чистої кінцевої продукції. Тому вивчення дії таких антропогенних факторів як важкі метали на ліпіди та їх обмін у зерні кукурудзи при проростанні є актуальним, оскільки дозволить виявити негативний вплив факторів довкілля на фізіолого-біохімічні процеси злакової культури, яка в польових умовах вирощується за комплексного забруднення ґрунтів і середовища у цілому.

Ширше досліджували вплив гербіцидів на сільськогосподарські рослини. При вивченні дії метолахлору, диметенаміду, ацетохлору, алахлору тощо на ріст і розвиток кукурудзи відмічено прояви хлорозу, некрозу, пригнічення зростання проростків, усихання листя. Одно- та дворазові дози ацетохлору, алахлору та триазин-сульфотріону найшкідливіші для рослин кукурудзи [14]. Як впливають гербіциди на показники ліпідного обміну у культурних рослинах, вивчено недостатньо. Виявлено, що гербіцид тенілхлор та його аналоги інгібують біосинтез жирних кислот з алкільними ланцюгами, довгими за $C_{18:0}$; у мікросомах цибулі знайдено кореляцію між фітотоксичним ефектом гербіциду та зниженням утворення довголанцюгових жирних кислот [12].

Стійкість рослин до дії металів в умовах техногенезу визначається багатьма чинниками [1], основним шляхом надходження токсичних компонентів, у тому числі й металів, до рослинного організму є коренева система [3]. Полютанти-мікроелементи відіграють важливу роль у метаболізмі рослин і можуть зберігатися у вигляді неактивних сполук у клітинах і клітинних мембранах. Вищі їх концентрації можуть призводити до загальних неспецифічних фізіолого-біохімічних змін, серед яких виділяють пошкодження мембран, зміни активності ферментів, інгібування росту рослин тощо [9]. Виявлено зміни компонентного складу цитозольних білків клітин кореневих меристем кукурудзи за дії алюмінію, зумовлені активацією або репресією регуляторних генів, які можуть посилювати інтенсивність біосинтезу білків або катаболічних явищ [13]. Негативний вплив Pb^{3+} на проростки пшениці у водній культурі зменшувався за рахунок дії іонів La^{3+} , за присутності яких зростала активність антиоксидантних ферментів і збільшувався антиоксидантний потенціал у проростків пшениці за дії обох металів [11]. Вивчали дію Ca^{2+} на рослини томату, виявлено накопичення металу та зростання активності пероксидази у тканинах коренів. Накопичення металу у клітинах апекса коренів призводило до дезорганізації водного режиму системи [10].

Ці первинні зміни можуть вести до гормонального дисбалансу, дефіциту окремих елементів, інгібування фотосинтезу та порушення водного режиму у рослинному організмі. Вплив таких важких металів як нікель і хром на зернові культури майже не вивчено, тоді як нікель належить до найтоксичніших для рослин металів. Дослідження дії різних концентрацій цих металів, поширених у природних умовах, на культурні рослини необхідне для прогнозування наслідків їх впливу та своєчасного зменшення несприятливої дії на харчові культури.

Мета цієї роботи – оцінка впливу важких металів (нікелю та хрому) у концентраціях 10^{-5} , 10^{-4} моль/л на вміст, фракційний склад загальних ліпідів, активність ліпаз і склад вільних жирних кислот у проростаючому зерні кукурудзи на ранніх етапах онтогенезу рослин.

Матеріал і методи досліджень

Досліджували вплив іонів Ni^{2+} та Cr^{3+} у діапазоні концентрацій 10^{-5} – 10^{-4} моль/л, близьких до тих, що є у польових умовах, окремо та за їх спільної дії на фракційний склад і вміст загальних ліпідів, активність ферментів ліпідного обміну ліпаз у зерні кукурудзи гібриду Бліц 160 МВ при проростанні на шосту добу розвитку рослин.

Виділення сумарних ліпідів із зерна при проростанні проводили за модифікованою методикою Блайя-Дайєра [6]. Тонкошарову хроматографію загальних ліпідів, їх розподіл на основні фракції з кількісним денситометруванням ліпідних фракцій і визначення активності ферментів ліпаз проводили за [2; 7]. Компонентний склад вільних жирних кислот визначали методом газорідинної хроматографії на хроматографі «Хром-5» (Чехія) за температури 150...270 °С за [5]. Експериментальні дані оброблені статистично за [4], біологічні досліди та біохімічні аналізи проводили у триразовій повторності.

Результати та їх обговорення

Важкі метали у більшості негативно впливали на ріст і розвиток паростків гібриду кукурудзи, викликаючи гальмування темпів їх росту, особливо за вищих концентрацій токсикантів та їх комплексної дії. Ліпіди та жири у цілому відіграють дуже важливу роль у розвитку живих організмів і в рослинних – також, оскільки є захисними речовинами, які забезпечують енергетичний потенціал зерна при проростанні. Крім цього, вони мають також захисну функцію і є важливими компонентами біологічних мембран [8]. Тому вивчення впливу антропогенних факторів на вміст, склад ліпідів та їх метаболізм у зерні гібриду кукурудзи при проростанні актуальне, оскільки дозволить розкрити механізм дії комплексного забруднення довкілля, зокрема важкими металами, на культурні рослини.

Під впливом нікелю, хрому та за їх спільної дії відмічене підвищення активності ліпаз, суттєвіше при вищих концентраціях металів (10^{-4} моль/л) та їх спільному впливі. Комплексна дія нікелю та хрому у максимальних дозах призводила до редукції активності ліпаз (табл. 1). При цьому виявлене зниження вмісту загальних ліпідів від 46 до 74 %, більшою мірою – при вищих концентраціях окремих металів та за їх спільної дії з вищими дозами металів (див. табл. 1). Хром більшою мірою пригнічував вміст загальних ліпідів у зерні кукурудзи, що відбивало зниження захисних властивостей зерна, особливо під впливом хрому. Виявлене зростання активності ферментів (7–17 %) та синергізм їх впливу за спільної дії двох токсикантів узгоджувалось із підвищенням вмісту фракції вільних жирних кислот у дослідних зразках кукурудзи за дії металів (табл. 2).

При вивченні фракційного складу загальних ліпідів виявлено тенденцію зростання вмісту фракцій фосфоліпідів (за дії окремих металів), дигліцеридів, стеринів та вільних жирних кислот за дії нікелю, хрому та їх спільного впливу і редукцію у більшості фракцій тригліцеридів та ефірів стеринів (головним чином, за дії окремих металів) (див. табл. 2). У більшості випадків виявлено антагонізм дії двох металів на вміст окремих фракцій ліпідів.

При дослідженні компонентного складу вільних жирних кислот визначено підвищення вмісту ненасичених жирних кислот за дії хрому та спільної дії двох металів (максимальної з мінімальною концентраціями); але зниження їх вмісту за дії нікелю та комплексної дії двох металів у максимальних або мінімальних дозах. Підвищення вмісту ненасичених жирних кислот відносно контролю у зерні кукурудзи при проростанні можна розглядати як адаптивну реакцію рослин на дію токсикантів.

Таблиця 1

**Активність ліпази і вміст загальних ліпідів у зерні кукурудзи
на шосту добу проростання під впливом важких металів**

Вид обробки	Активність ліпази, відн.од./100 г ваги на годину				Вміст загальних ліпідів	
	кисла <i>pH</i> 4,7	лужна <i>pH</i> 8,5	сумарна	відношення до контролю, %	відношення до наважки, %	відношення до контролю, %
Контроль, H_2O	9,6	11,7	21,3	100	2,77	100
Нікель, 10^{-5} моль/л	10,7	13,0	23,7	111	1,23	44
Нікель, 10^{-4} моль/л	13,0	11,5	24,5	115	1,17	42
Хром, 10^{-5} моль/л	10,4	12,6	23,0	108	1,13	41
Хром, 10^{-4} моль/л	11,5	11,3	22,8	107	0,87	31
Нікель, 10^{-5} моль/л + хром, 10^{-5} моль/л	14,6	9,3	23,9	112	1,17	42
Нікель, 10^{-5} моль/л + хром, 10^{-4} моль/л	13,9	10,9	24,8	116	0,90	32
Нікель, 10^{-4} моль/л + хром, 10^{-5} моль/л	13,5	11,3	24,8	116	1,50	54
Нікель, 10^{-4} моль/л + хром, 10^{-4} моль/л	9,1	11,1	20,2	95	0,73	26

Таблиця 2

**Компонентний склад загальних ліпідів у зерні кукурудзи
на шосту добу проростання під впливом важких металів**

Вид обробки	Вміст фракцій загальних ліпідів, %					
	ФЛ	ДГ	С	ВЖК	ТГ	ЕС
Контроль, H_2O	19,1	17,4	15,7	14,8	16,5	16,5
Нікель, 10^{-5} моль/л	19,4	17,3	15,4	15,7	15,7	16,5
Нікель, 10^{-4} моль/л	19,8	18,0	15,8	15,8	15,1	15,5
Хром, 10^{-5} моль/л	19,9	19,3	16,7	15,7	14,0	14,4
Хром, 10^{-4} моль/л	19,8	18,8	16,7	15,7	13,6	15,4
Нікель, 10^{-5} моль/л + хром, 10^{-5} моль/л	18,1	18,5	15,9	15,4	15,4	16,7
Нікель, 10^{-5} моль/л + хром, 10^{-4} моль/л	18,2	17,7	16,0	15,2	16,0	16,9
Нікель, 10^{-4} моль/л + хром, 10^{-5} моль/л	18,2	17,3	16,0	15,6	15,6	17,3
Нікель, 10^{-4} моль/л + хром, 10^{-4} моль/л	17,3	16,9	15,6	16,0	16,4	17,8

Примітки: ФЛ – фосфоліпіди, ДГ – дигліцериди, С – стерини, ВЖК – вільні жирні кислоти, ТГ – тригліцериди, ЕС – ефіри стеринів.

За спільної дії двох металів спостерігалось максимальне підвищення вмісту ненасичених жирних кислот за дії мінімальної дози нікелю з максимальною дозою хрому. За складом вільних жирних кислот серед насичених жирних кислот відмічено зростання вмісту пальмітинової кислоти $C_{16:0}$. За дії нікелю та спільної дії двох металів у більшості випадків виявлена залежність її вмісту від дози металів, тому пальмітинову кислоту можна надалі використовувати як реперну. За дії мінімальної дози хрому вміст $C_{16:0}$ знижувався. Це підтверджувало той факт, що іноді мінімальні дози токсикантів впливають на культурні рослини шкідливіше, ніж високі. Серед насичених жирних кислот відмічено також суттєвий вміст бегенової кислоти $C_{22:0}$, який підвищувався на 40–50 % під впливом окремо металів та за їх спільної дії в максимальних або мінімальних концентраціях. Серед ненасичених жирних кислот основний вклад вносила олеїнова кислота $C_{18:1}$, вміст якої знижувався під впливом нікелю та за спільної дії

двох металів у високих чи низьких дозах. За дії хрому та в інших випадках комплексного впливу двох металів її вміст у більшості підвищувався. Підвищення вмісту ненасичених жирних кислот за дії нікелю, хрому та їх комплексу відбиває активацію адаптивних процесів у зерні кукурудзи при проростанні.

У цілому за показниками ліпідного обміну за спільної дії двох металів нікелю та хрому спостерігався антагонізм (у деяких випадках – синергізм) дії токсикантів на досліджені фізіолого-біохімічні показники ліпідного метаболізму в проростаючому зерні кукурудзи. При високих дозах токсикантів та їх комплексу відбувалося пригнічення адаптивних процесів і захисних функцій рослин кукурудзи, що необхідно брати до уваги при вирощуванні зернових культур у несприятливих умовах техногенного регіону і на забруднених важкими металами ґрунтах.

Висновки

На фоні пригнічення росту рослин за дії нікелю та хрому у дозах 10^{-5} , 10^{-4} моль/л виявлено редукцію вмісту загальних ліпідів у зерні кукурудзи, що приводило до зниження захисних властивостей рослин і підвищення активності ліпаз більшою мірою – за дії вищих концентрацій металів. Комплексна дія двох металів у максимальних дозах призводила до редукції активності ліпаз у зерні при проростанні, що свідчило про їх токсичний вплив.

Знайдено зміни фракційного складу загальних ліпідів за дії металів. Виявлено тенденцію зростання вмісту ФЛ, ДГ, С та ВЖК, але зниження рівня ТГ та ЕС; у більшості спостерігався антагонізм впливу двох металів на вміст окремих фракцій ліпідів.

При дослідженні компонентного складу вільних жирних кислот виявлено підвищення коефіцієнта ненасиченості жирних кислот (e ненасичених / e насичених) від 30 до 40 % за дії хрому та комплексної дії двох токсикантів. Нікель і спільна дія двох металів у максимальних або мінімальних дозах пригнічували вміст ненасичених жирних кислот, у чому проявлялася їх токсична роль. Жирні кислоти $C_{16:1}$, $C_{18:1}$, $C_{22:0}$ можна надалі використовувати як реперні на дію вивчених важких металів на зернові культури.

Бібліографічні посилання

1. **Взаимодействие** растений с техногенно загрязненной средой / Под ред. И. К. Закирова. – К. : Лыбидь, 1995. – 191 с.
2. **Вплив** гербіцидного фону на загальний ліпідний склад та фосфоліпіди в зерні кукурудзи гібриду Дніпровський 284 / Л. Ф. Заморуєва, В. М. Глубока, І. О. Філонік, О. М. Вінниченко // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2002. – Вип. 10, т. 1. – С. 194–197.
3. **Гуральчук Ж. З.** Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культурных растений. – 1994. – Т. 36, № 2. – С. 107–117.
4. **Доспехов Б. А.** Методика полевого опыта. – М. : Колос, 1985. – 351 с.
5. **Жирные кислоты** поверхностных липидов зерна кукурузы обычных и высоколизиновых форм / А. Н. Винниченко, Н. И. Штеменко, Л. Ф. Заморуєва и др. // Химия природных соединений. – 1990. – № 3. – С. 262–264.
6. **Кейтс М.** Техника липидологии. – М. : Мир, 1975. – 320 с.
7. **Методы** биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. – Л. : ЛГУ, 1987. – С. 493–497.
8. **Таран Н. Ю.** Адаптаційні зміни ліпідних компонентів мембран хлоропластів за дії на рослини факторів довкілля // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, № 1. – С. 21–29.
9. **Титов А. Ф.** Влияние ионов свинца на рост и морфофизиологические показатели растений ячменя и овса / А. Ф. Титов, Г. Ф. Лайдинен // Физиология и биохимия культурных растений. – 2001. – Т. 55, № 8. – С. 83–88.

10. **Activite** peroxydasique et modifications ultrastructurales induites par le cadmium dans la racine de tomate / Djebali Wahbi, Chaibi Wided, Jhorbel Mohamed, Habib Croissance // Can. J. Bot. – 2002. – N 9. – P. 942–953.
11. **Effect** of La^{3+} on the activities of antioxidant enzymes in wheat seedlings under lead stress in solution culture / X. Pang, D. H. Wang, X. Y. Xing et al. // Chemosphere. – 2002. – Vol. 47, N 10. – P. 1033–1039.
12. **Inhibition** of biosynthesis very long chain fatty acids under the tenichlorine-2-chlorine-N-(3-metoksy-2-tenil)-2, 6-dimethylacet-anilide and its analoges action / Takahashi Hideomi, Ohks Aiko, Kato Shozo et al. // Pestic. Biochem. and Physiol. – 2001. – Vol. 71, N 3. – P. 140–146.
13. **Kocian L.** Cellular mechanisms of aluminium toxicity and resistance in plants // Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol. – 1995. – Vol. 46. – P. 237–260.
14. **Saayman-du Toit A. E. J.** Phytotoxicity of seven graminicides of maize // S. Afr. J. Plant and Soil. – 2002. – Vol. 19, N 2. – P. 111–113.

Надійшла до редколегії 16.07.2009