

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

ЗУБРОВСЬКА ОЛЬГА МИКОЛАЇВНА

УДК 581.1:581.52:502.521



**ЛІПІДИ ТА ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ КУТИКУЛИ ЛИСТКІВ
У АДАПТАЦІЙНИХ РЕАКЦІЯХ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН
ЗА ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

03.00.12 – фізіологія рослин

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано у відділі фізіології рослин та біології ґрунтів Криворізького ботанічного саду НАН України.

Науковий керівник: кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник
Гришко Віталій Миколайович,
Криворізький ботанічний сад НАН України,
с.н.с. відділу оптимізації техногенних ландшафтів

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

доктор біологічних наук, професор
Косаківська Ірина Василівна,
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,
завідувач відділом фітогормонології.

Захист відбудеться «20» березня 2018 року о 16⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.14 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, просп. Академіка Глушкова, 2, корпус 12, ННЦ «Інститут біології», ауд. 434.

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, спеціалізована вчена рада Д 26.001.14.

З дисертацією можна ознайомитися у Науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 58, зала 12.

Автореферат розісланий «16» лютого 2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.001.14



Джаган В. В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Питання адаптації та стійкості рослин за умов антропогенного впливу є одними з головних у фізіології рослин. Техногенне навантаження в промислових регіонах обумовлюється здебільшого за рахунок газових та пилових викидів з домішками важких металів, які вважаються одними з найбільш токсичних серед хімічних елементів (Гуральчук, 2006; Швартау, 2009; Emamverdian, 2015). За останніми даними у ґрунтах центральної частини м. Кривий Ріг вміст плумбуму перевищує фоновий рівень по Дніпропетровщині до 40 разів, хрому – у 6-8 разів; цинку – до 15 разів; нікелю – до 8 разів (Важкі метали..., 2012; Савосько, 2016). Тому як у теоретичному, так і практичному сенсі дослідження характеру акумуляції важких металів деревними рослинами, вивчення особливостей фізіологічної адаптації та формування стресостійкості рослин є актуальним та своєчасним.

Одним з показників фізіологічного стану рослин у стресових умовах вважається інтенсивність перебігу вільнорадикальних процесів, які проявляються у неспецифічних фізіолого-біохімічних реакціях на дію стресору (Gill, 2010; Foyer, 2011; Batsmanova, 2014). Важливу участь у формуванні механізмів фізіологічної адаптації відіграють ліпідні компоненти мембран (Hernandez, 1997; Lopez-Perez, 2009; Таран, 2009; Косаківська, 2011) і кутикули листків (Buschhaus, 2011; Антонюк, 2011; Le Provost, 2013), кількісні та якісні характеристики яких обумовлюють специфіку розвитку захисних процесів.

В Україні вивчення поверхневого шару кутикули листків, як показника пристосування до впливу металовмісних забруднювачів, малочислені, хоча досвід закордонних науковців свідчить про їх актуальність, адже зміни компонентів кутикулярного шару певною мірою забезпечують фізіологічну стійкість рослин не тільки до дії токсикантів, а і засобів захисту рослин, шкідників та інш. чинників (Samuels, 2008; Ветчинникова, 2013; Petrova, 2014; Jetter, 2014, Wojcicka, 2016).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано у відділі фізіології рослин і біології ґрунтів Криворізького ботанічного саду НАН України впродовж навчання в аспірантурі у 2007-2010 рр. і подальшій роботі у відділі в межах планових досліджень за темами: «Зниження біодоступності токсичних сполук в ґрунтах шляхом використання рослин з високим фітостабілізаційним потенціалом» (№ ДР 0107U003903) (2007-2009 рр.) і «Транслокація важких металів і фтору в системі «ґрунт – рослина» та підвищення стійкості рослин за дії абіотичних факторів» (№ ДР 0110U004493) (2010-2014 рр.) Цільових програм НАН України, а також фундаментальних НДР «Роль антиоксидантних ферментних систем у формуванні адаптаційного синдрому рослин за сумісної дії ксенобіотиків та біологічні процеси трансформації сполук азоту в техногенних едафотобах» (№ ДР 0111U005106) (2011-2015 рр.) і «Фізіолого-біохімічні і цитогенетичні особливості адаптації рослин до стресової дії важких металів та процеси біологічної мобілізації сполук карбону і нітрогену в технозомах» (№ ДР 0116U003465) (2016-2020 рр.) та грантом Президента України для обдарованої молоді «Вдосконалення ефективності зелених насаджень як біологічних фільтрів при забрудненні довкілля важкими металами задля

мінімізації екологічних ризиків для населення» (Розпорядження Президента України № 72/2012-рп).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – встановлення видоспецифічності акумуляції важких металів, перебігу процесів пероксидного окиснення ліпідів та адаптаційних реакцій на рівні ліпідних компонентів і вторинних метаболітів кутикули листків деревних рослин.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

- вивчити динаміку акумуляції нікелю, плумбуму, кадмію та цинку асиміляційними органами деревних рослин за дії стаціонарних джерел забруднення;
- визначити інтенсивність перебігу процесів пероксидного окиснення ліпідів як неспецифічних реакцій фізіологічної адаптації рослин до стресової дії важких металів на різних стадіях морфогенезу листків;
- встановити особливість функціонування ліпаз в асиміляційних органах деревних рослин за різного рівня забруднення;
- з'ясувати зміни певних складових поверхневого шару кутикули листків різних за стійкістю рослин та особливості їх адаптації за дії важких металів;
- оцінити ступінь стійкості деревних рослин до промислового забруднення та запропонувати асортимент видів для озеленення територій промислових підприємств.

Об'єкт дослідження: процеси фізіологічної адаптації деревних рослин до стресового впливу забруднення довкілля сполуками цинку, плумбуму, кадмію та нікелю.

Предмет дослідження: фізіолого-біохімічні особливості пероксидного окиснення ліпідів та функціональні (приспосувальні) перебудови (трансформації) поверхневого шару кутикули листків за участю різноманітних ліпідних компонентів та вторинних метаболітів у деревних рослин за певного рівня акумуляції важких металів.

Методи дослідження: фізіолого-біохімічні (атомно-абсорбційного аналізу, спектрофотометричні, методи тонкошарової і обернено-фазової вискоефективної рідинної хроматографії), морфометричні методи оцінки стану насаджень, статистичного аналізу та математичної обробки даних.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше встановлена видоспецифічність акумуляції цинку, кадмію, плумбуму та нікелю в листках деревних рослин на різних стадіях їх морфогенезу. Визначено сумісний вплив промислових викидів на вміст поверхневих ліпідів кутикули листків. Вперше за впливу надлишку іонів важких металів показано трансформаційні зміни різноманітних функціональних груп речовин кутикулярного шару листків, що характеризуються новоутворенням/деградацією певних класів сполук та зміною їх кількісного і якісного складу, а також інтенсивність ферментативних реакцій внаслідок активації/інактивації ліпаз. Вперше показана роль різних класів терпеноїдів, серед яких перегруповані евдесманові й кадинанові сесквітерпеноїди та фітанові дитерпеноїди – так звані «захисні фактори», у формуванні фізіологічної адаптації листків деревних рослин за дії металовмісних промислових викидів. Вперше у складі поверхневого шару кутикули листків

T. cordata виявлено присутність фітанових дитерпеноїдів, а у листках *S. aucuparia* ідентифіковані сорбінова та парасорбінова кислоти, які раніше знаходили в плодах. У листках *A. negundo*, *T. cordata* і *A. hippocastanum* виявлено значну кількість стеролів, стигмастанових та ергостанових стероїдів, які разом з терпеноїдами регулюють агрегатний стан поверхневого шару кутикули та його проникність. Отримані дані розширюють уявлення про адаптивні можливості деревних рослин в промислових умовах та вказують на видоспецифічність проявів фізіологічної стійкості, обумовленої якісними і кількісними змінами компонентів поверхневого шару кутикули листків за стресових умов.

Практичне значення отриманих результатів. Виявлені фізіолого-біохімічні зміни компонентів поверхневого шару кутикули листків можуть використовуватись для оцінки фізіологічного стану деревних рослин в умовах забруднення середовища важкими металами. На підставі визначення акумуляційної здатності та рівня ураження асиміляційних органів, гілок і стовбуру було розроблено і впроваджено асортимент рослин для озеленення зон сильного рівня забруднення ПАТ «Криворізький суриковий завод».

Результати досліджень впроваджено на ПАТ «Криворізький суриковий завод» (м. Кривий Ріг), а також використовуються на кафедрі ботаніки та екології Криворізького педагогічного інституту КНУ при викладанні окремих лекцій курсу «Фізіологія рослин» та спецкурсів: «Фізіологія та захист рослин», «Рослинність техногенних екотопів» і «Промислова екологія»; на кафедрі садово-паркового господарства та генетики рослин Запорізького національного університету при викладанні окремих лекцій курсу «Фізіологія та біохімія рослин», «Фізіологія рослин», «Біоекологія» і «Анатомія та морфологія рослин»; на кафедрі фізіології та інтродукції рослин Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара при викладанні окремих лекцій курсу «Фізіологія та біохімія рослин».

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною роботою автора. Розробку програми досліджень, планування головних напрямків роботи виконано за наукового керівництва к.б.н., ст.н.с. В.М. Гришка. Здобувач особисто опрацював численну літературу; самостійно оволодів методиками досліджень; планував та проводив експериментальну роботу; у співавторстві з к.б.н. Гришко В.М. та к.б.н. Граховим В.П. підготував наукові матеріали до друку. Дослідження з використанням вискоєфективної рідинної хроматографії проводились у Центрі колективного користування Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України за участю к.б.н. Грахова В.П. Експериментальні дані, висновки та узагальнення, викладені у дисертації, отримані здобувачем самостійно.

Апробація результатів дисертації. Основні наукові результати оприлюднені та обговорені на засіданнях Вченої ради Криворізького ботанічного саду НАН України (2008-2017 рр.) та були представлені автором на міжнародних та всеукраїнських конференціях: «Відновлення порушених природних екосистем» (Донецьк, 2008), «Біологія: від молекули до біосфери» (Харків, 2008), «Проблеми збереження біорізноманіття в природних та техногенно порушених екосистемах» (Кривий Ріг, 2008), «Молодь і поступ в біології» (Львів, 2009), «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Кременець, 2009), «Перспективи розвитку

лісового та садово-паркового господарства» (Умань, 2010), «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів» (Київ, 2010), «Інтродукція рослин, збереження та збагачення біорізноманіття в ботанічних садах і дендропарках» (Київ, 2010), «Промислова ботаніка: стан та перспективи розвитку» (Донецьк, 2010), «Растение и стресс» (Москва, 2010), «Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні та генетичні аспекти» (Харків, 2011), «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів» (Київ, 2012), «Инновационные направления современной физиологии растений» (Москва, 2013), «Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні і генетичні аспекти» (Харків, 2014), «Інтродукція рослин, збереження та збагачення біорізноманіття в ботанічних садах та дендропарках» (Київ, 2015), «Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений» (Москва, 2015), «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів» (Київ, 2016), а також на IV з'їзді Українського товариства фізіологів рослин (Київ, 2009) та XIII з'їзді Українського ботанічного товариства (Львів, 2011).

Публікації. Основний зміст роботи відображено у 28 наукових публікаціях, з них – одна монографія і 8 статей, у тому числі 1 зарубіжна, 4 у фахових виданнях, 2 статті у журналах, що входять до наукометричних баз та 19 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій і з'їздів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 219 сторінках друкованого тексту і складається із вступу, 6 розділів, висновків, списку використаних джерел, що включає 432 найменування, серед яких 179 іноземних джерел (латиницею). Робота містить 19 таблиць, 21 рисунок та 5 додатків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури охоплює узагальнені дані щодо фізіологічної ролі нікелю, цинку, плумбуму і кадмію у рослинах, особливостей їх поглинання та фітотоксичної дії за поліелементного забруднення довкілля. Розглянуто питання участі компонентів поверхневого шару кутикули листків у регуляції гомеостазу, фізіологічної адаптації та стійкості рослин в стресових умовах.

Матеріали та методи досліджень. Особливості адаптації та стійкості деревних рослин *Populus bolleana* Lauche, *Populus italica* (Du Roi) Moench, *Populus deltoides* Marsh., *Ulmus laevis* Pall., *Acer negundo* L., *Tilia cordata* Mill., *Sorbus aucuparia* L., *Betula pendula* Roth, *Aesculus hippocastanum* L. другої вікової групи вивчали за впливу промислових викидів ПАТ «Криворізький суриковий завод» з вмістом Ni, Zn, Pb і Cd біля центральної прохідної заводу (зона сильного забруднення) та на ділянці, розташованій за 2 км від промислових потужностей (зона слабого забруднення). Контролем слугував дендрарій Криворізького ботанічного саду НАН України. В процесі росту з 10 рослин кожного виду відбирали листки з середини крони південно-західної експозиції у фазу повного відособлення листків, на 5-10 та 80-85 доби фази завершення росту листків (початок та кінець фази відповідно).

Вміст важких металів у рослинному матеріалі визначали на атомно-адсорбційному спектрофотометрі С-115 (Україна) за «Методичними вказівками щодо визначення важких металів у ґрунтах сільськогосподарських угідь і продукції рослинництва» (1989). Показники внутрішньотканинного забруднення рослин розраховували за Ільїним (1979). Стан деревних рослин оцінювали згідно методики Мовсесян (1978) в модифікації Гришко (2002). Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів визначали за кількістю дієнових та триєнових кон'югатів (Курганова, 1997), а також вмістом ТБК-активних продуктів, що взаємодіють з 2-тіобарбітуровою кислотою (Мусієнко, 2001). Вміст білка в листках визначали за Greenberg (1982). Поверхневі ліпіди кутикули листків екстрагували за методом Блайя і Дайера в модифікації Берзеніної (2002). Тонкошарову хроматографію поверхневих ліпідів проводили за Кейтсом (1975). Профілювання компонентів поверхневого шару кутикули проводили методом обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії (Nakurte, 2012; Kaliyaperumal, 2013) на модульній хроматографічній системі Agilent 1100 з діодно-матричним детектуванням (Agilent Technologies, Німеччина). Результати опрацьовували за допомогою Agilent ChemStation® і CorelDraw®. Активність ліпази визначали за Єрмаковою (Методы биохимического..., 1987). Повторність окремого варіанту дослідження складала 10 рослин, аналітична повторність – 4-кратна, біологічна повторність – 3-кратна. Статистичну обробку даних проводили за загальноприйнятими методами за рівня значущості $\alpha \sim 0,95$ (Єгоршин, 2005; Інформаційні технології..., 2007).

Результати досліджень та їх обговорення

Фізіологічні особливості акумуляції деяких важких металів листками деревних рослин за різного рівня забруднення. Встановлено, що протягом морфогенезу листків в умовах контролю високі значення плумбуму (1,50-3,25 мкг/г сухої речовини) були зафіксовані у *T. cordata* та *A. negundo*. Нікель максимально інтенсивно концентрувався у листках *P. bolleana*, а його рівні зростали від 1,04 до 2,34 мкг/г сухої речовини. Найактивніше цинк акумулювався у *A. negundo* (0,77-2,89 мкг/г сухої речовини) та *P. deltoides* (0,65-2,18 мкг/г сухої речовини). Зауважимо, що концентрація кадмію на першому етапі морфогенезу листків у всіх видів була практично однаковою, тоді як на наступних він активніше накопичувався у *B. pendula* і *U. laevis*.

Для оцінки фізіологічних особливостей акумуляції важких металів у листках деревних рослин в промислових умовах були визначені показники внутрішньотканинного забруднення. Найбільш контрастні і високі їх значення характерні для зони сильного забруднення, обраної в подальшому для вивчення особливостей формування адаптаційних реакцій. В даних умовах серед досліджених елементів максимально інтенсивно накопичувався цинк, який є біологічно важливим елементом (рис. 1).

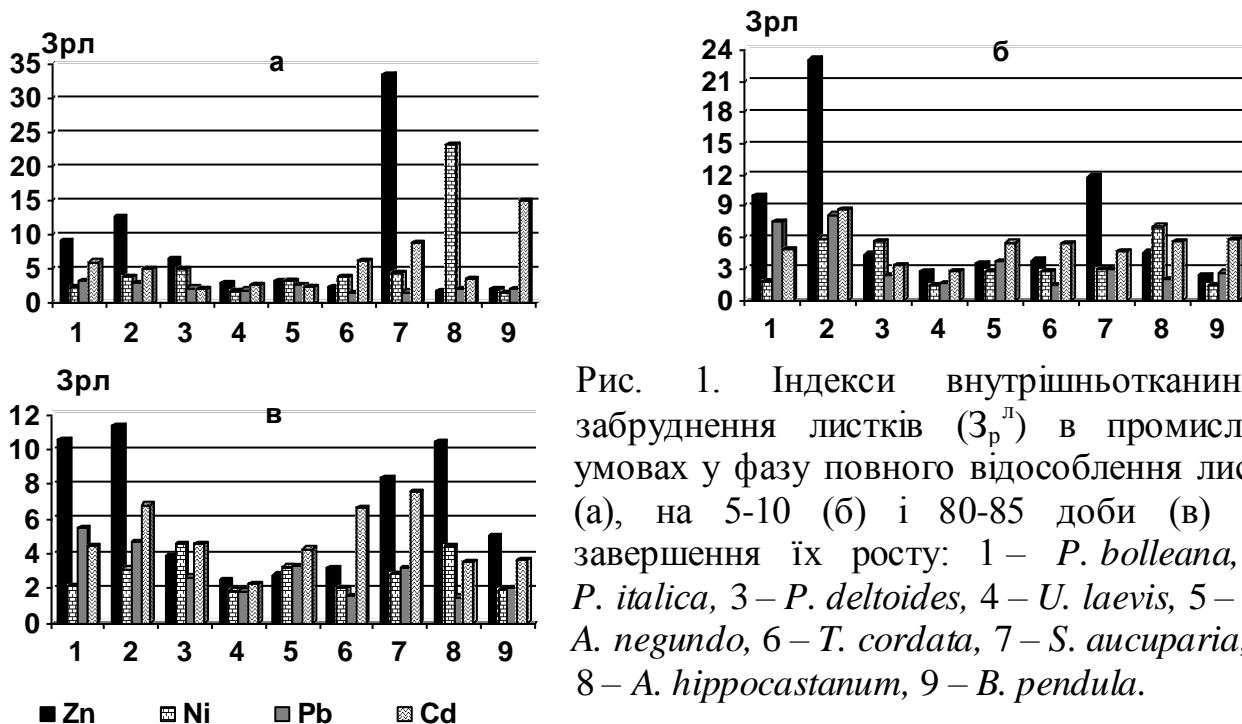


Рис. 1. Індекси внутрішньотканинного забруднення листків ($Z_p^л$) в промислових умовах у фазу повного відособлення листків (а), на 5-10 (б) і 80-85 доби (в) фази завершення їх росту: 1 – *P. bolleana*, 2 – *P. italica*, 3 – *P. deltoides*, 4 – *U. laevis*, 5 – *A. negundo*, 6 – *T. cordata*, 7 – *S. aucuparia*, 8 – *A. hippocastanum*, 9 – *B. pendula*.

Так, на початку морфогенезу листків найвищий показник біологічної акумуляції цинку ($Z_p^л$ 33,51) був характерним для *S. aucuparia*. Проте, на наступних етапах розвитку листків темпи його акумуляції уповільнювалися в 2,8 і 4 рази, однак лишались високими, як і для *P. italica* та *P. bolleana* ($Z_p^л$ 23,07; 11,38 та 9,97; 10,56 відповідно). Встановлене, ймовірно, пояснюється посиленням активності глутатіонової та аскорбінової ланок антиоксидантних систем (Гришко, Данильчук, 2007). Крім того, Копиловою (2012) і Sebastiani (2014) показано, що види роду *Populus* в урбанізованому середовищі є концентраторами цинку. У *A. hippocastanum* і *B. pendula* на всіх етапах морфогенезу листків коефіцієнти акумуляції металу залишалися найнижчими, що свідчить про видоспецифічність функціонування бар'єрних механізмів.

Максимальне внутрішньотканинне забруднення листків нікелем у зоні сильного забруднення встановлене у *A. hippocastanum*, а мінімальне – у *U. laevis* (рис. 1). До того ж на 80-85-ту доби фази завершення росту листків високі показники його акумуляції ($Z_p^л$ = 4,52) спостерігалися у *P. deltoides*. У *P. bolleana* і *P. italica* встановлені високі темпи накопичення плумбуму (перевищували контроль в 5-8 разів), тоді як у *T. cordata* і *A. hippocastanum* вони були найнижчі.

На початку морфогенезу листків високі значення акумуляції кадмію встановлені у *B. pendula* і *S. aucuparia*, які в умовах промислових центрів Росії є його видами-накопичувачами (Ветчиннікова, 2013). На наступних етапах розвитку листків він найактивніше концентрувався у *S. aucuparia*, *P. italica* і *T. cordata* ($Z_p^л$ = 6,61-7,54). У зоні слабого забруднення, порівняно з сильним, тополі накопичували в 4,5 рази менше металів, а *U. laevis* і *A. negundo* – лише в 1,7 рази.

Досліджені види було поділено на три групи: з високим акумуляційним потенціалом більшості металів (перевищує фоновий рівень у понад 5 разів) – *P. bolleana*, *P. italica* і *S. aucuparia*; з середнім акумуляційним потенціалом (від 3 до 5 разів) – *P. deltoides*, *T. cordata* і *A. negundo*; з низьким акумуляційним потенціалом (до 2,5 разів) – *A. hippocastanum*, *U. laevis* і *B. pendula*.

Характер початкових етапів стресового відгуку рослин за дії аерогенних викидів з вмістом важких металів. Акумуляція вивчених елементів у деревних видів індукувала розвиток окиснювального стресу, показниками інтенсивності якого вважаються дієнові і триєнові кон'югати та ТБК-активні продукти. На початку морфогенезу листків (рис. 2, а) у зоні сильного забруднення підвищення рівня важких металів у *P. italica* і *S. aucuparia* спричинювало зростання в 1,2-1,3 рази вмісту дієнових кон'югатів та в 1,3-1,6 рази триєнових.

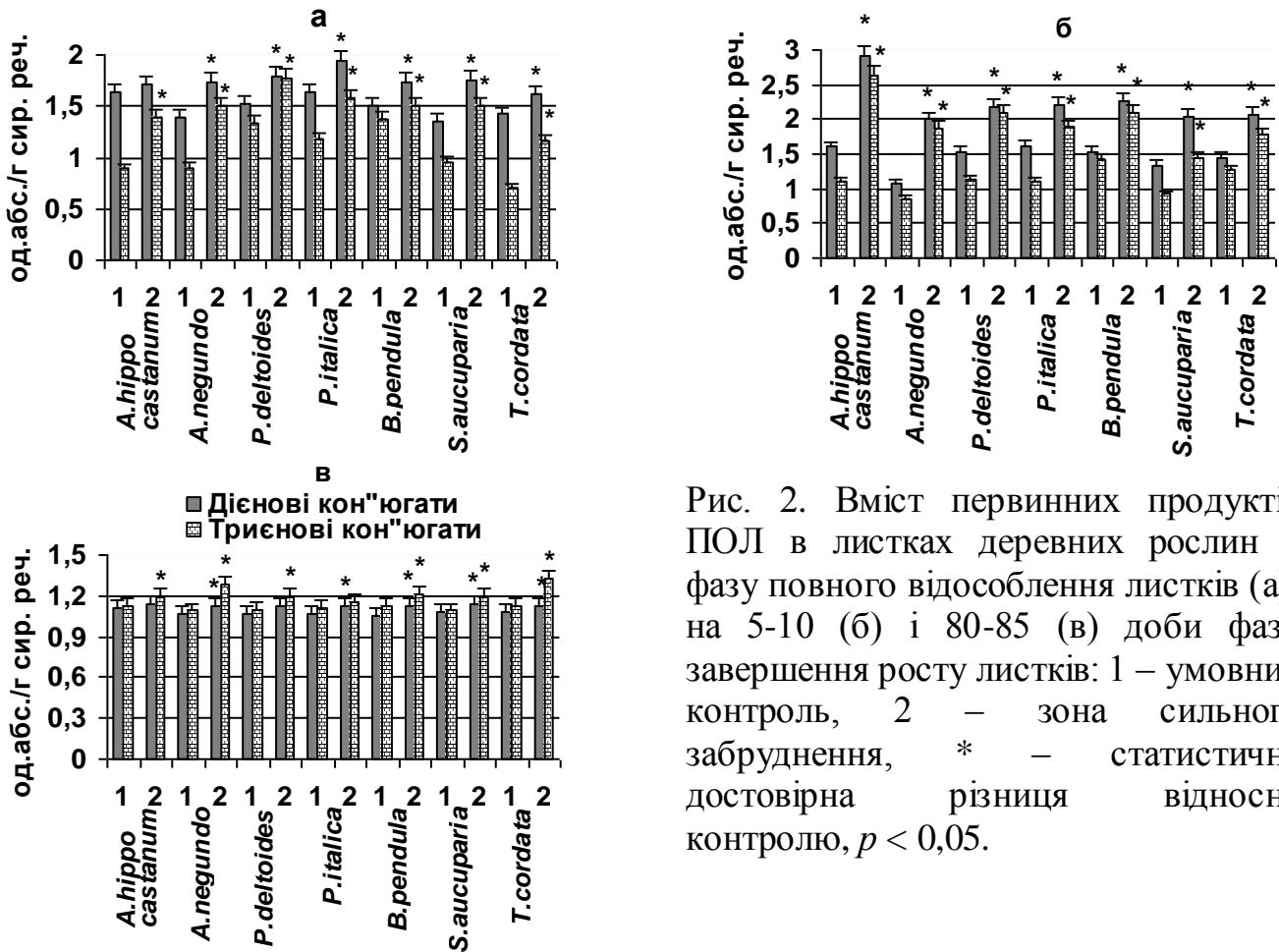


Рис. 2. Вміст первинних продуктів ПОЛ в листках деревних рослин у фазу повного відособлення листків (а), на 5-10 (б) і 80-85 (в) доби фази завершення росту листків: 1 – умовний контроль, 2 – зона сильного забруднення, * – статистично достовірна різниця відносно контролю, $p < 0,05$.

У видів з середнім акумуляційним потенціалом (крім *P. deltoides*) початкові етапи стресового відгуку реалізувалися через підвищення в 1,7 рази кількості триєнових кон'югатів. Тоді як у видів з низьким коефіцієнтом біологічної акумуляції, як правило, рівні первинних продуктів ПОЛ перевищували показники контролю до 16%.

На початку фази завершення росту листків стресовий відгук посилювався, а показники вмісту дієнових і триєнових кон'югатів зростали у 1,5-2,3 рази від контролю (рис. 2, б). Наприкінці фази завершення росту листків, порівняно з попередніми, рівень первинних продуктів ПОЛ, особливо дієнових кон'югатів, в асиміляційних органах деревних рослин знижувався майже до рівня контролю (рис. 2, в). На нашу думку, це свідчить про активацію систем антиоксидантного захисту та поглиблення стресового впливу із зростанням утворення вторинних продуктів, в тому числі і ТБК-активних сполук.

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у клітинах рослин за дії важких металів. Довготривалий вплив несприятливих чинників довкілля в умовах зони сильного забруднення викликав глибший стресовий відгук. Мінімальний вміст вторинних продуктів ПОЛ на перших двох етапах дослідження був виявлений у видів з високим і середнім акумуляційним потенціалом та перевищував контроль у 1,7-2,0 рази (табл. 1).

Таблиця 1.

Вміст ТБК-активних продуктів у листках деревних рослин за дії важких металів (10^{-6} М МДА/мг білка)

Моніторингова ділянка	Фаза повного відособлення листків		5-10-та доба фази завершення росту листків		80-85-та доба фази завершення росту листків	
	M±m	t _{st}	M±m	t _{st}	M±m	t _{st}
1	2	3	4	5	6	7
<i>Populus italica</i>						
I	2,64±0,04	—	2,94±0,23	—	4,79±0,09	—
II	3,68±0,21	4,8	4,48±0,17	5,4	8,49±0,23	11,21
III	3,10±0,23	1,9	3,35±0,32	1,1	6,15±0,30	2,75
<i>Populus deltoides</i>						
I	1,20±0,10	—	1,86±0,12	—	1,90±0,11	—
II	7,33±0,28	21,1	8,76±0,67	10,1	9,18±0,27	5,8
III	4,74±0,21	15,8	6,64±0,25	17,3	6,75±0,15	7,3
<i>Acer negundo</i>						
I	2,83±0,23	—	7,04±0,57	—	9,07±0,25	—
II	3,83±0,11	4,0	13,29±0,52	8,1	17,46±0,43	18,16
III	3,48±0,17	2,3	9,71±0,74	2,8	12,53±0,49	6,57
<i>Sorbus aucuparia</i>						
I	4,84±0,01	—	6,48±0,20	—	6,47±0,26	—
II	9,35±0,55	8,2	12,71±0,26	19,2	13,75±0,39	14,77
III	—	—	—	—	—	—
<i>Tilia cordata</i>						
I	3,92±0,14	—	4,53±0,16	—	5,54±0,33	—
II	8,68±0,74	6,3	9,41±0,23	17,6	10,72±0,53	9,28
III	—	—	—	—	—	—
<i>Aesculus hippocastanum</i>						
I	2,47±0,05	—	2,51±0,25	—	3,67±0,14	—
II	6,27±0,20	18,6	6,80±0,04	17,1	7,21±0,17	14,85
III	—	—	—	—	—	—
<i>Betula pendula</i>						
I	4,93±0,28	—	5,08±0,16	—	5,46±0,35	—
II	12,74±0,24	21,3	13,87±0,18	36,4	16,02±0,51	19,62
III	—	—	—	—	—	—

Примітка: I – умовний контроль, II – зона сильного забруднення, III – зона слабого забруднення, «—» – вид не зростає на даній території.

Напевно, це пов'язане з активацією функціонування захисних антиоксидантних систем (Данильчук, 2013) та високим рівнем біосинтезу фітохелатинів і металотіонеїнів (Yang, 2011), які було виявлено у представників роду *Populus*, і підтверджується нами сильним кореляційним зв'язком між вмістом важких металів і ТБК-активними метаболітами ($r=+0,75-0,99$). У листках *B. pendula* і *A. hippocastanum* кількість вторинних сполук перевищувала показники контролю у 2,5 і 2,7 рази, що у першого виду в більшій мірі зумовлюється переважним накопиченням кадмію, а у іншого – нікелю. Порівнюючи інтенсивність утворення продуктів ПОЛ в зоні слабого забруднення необхідно констатувати, що менша ступінь акумуляції важких металів спричинює у 1,2-1,5 рази нижчий рівень прояву оксидативного стресу.

На 80-85 доби фази завершення росту листків (табл. 1) у видів з високим і середнім акумуляційним потенціалом (*P. bolleana*, *P. italica*, *S. aucuparia*, *T. cordata* і *A. negundo*, на тлі зростання вмісту важких металів, інтенсифікації утворення ТБК-активних продуктів не було виявлено, тоді як у видів з низькою акумуляційною здатністю (*A. hippocastanum*, *U. laevis* і *B. pendula*) їх кількість збільшується до 3,9 рази. У видів, які здатні акумулювати більшу кількість токсикантів, встановлене, скоріш за все, реалізується через інтенсифікацію роботи антиоксидантів білкової природи і низькомолекулярних антиоксидантів (Кузнецова, 2009; Хромих, 2012) та може обумовлювати підвищення їх фізіологічної стійкості до умов забруднення.

Зміни вмісту основних ліпідних компонентів у складі кутикули листків за умов оксидативного стресу індукованого важкими металами. Тривала дія металовмісних поллютантів не тільки призводила до істотних порушень фізіолого-біохімічних процесів, але й активувала адаптаційні зміни у листках деревних рослин за участю складових поверхневого шару кутикули. Їх узагальнену закономірність відображає вміст компонентів у період, коли ще активно не розвинулись процеси старіння і відтоку органогенних сполук з листків до інших органів, якому відповідає фаза завершення росту листків.

Встановлено, що в поверхневому шарі кутикули більшості видів в умовному контролі (рис. 3 а, б) переважали фосфоліпіди, дигліцериди й етери стеролів (14-21% від загального вмісту у суміші). Вільні жирні кислоти ідентифікувалися лише у *A. negundo* і *P. deltoides*, а тригліцериди – у *P. italica* і *B. pendula*.

В процесі пристосування рослин до факторів довкілля відбувався біосинтез нових ліпідних компонентів, які впливали на зміну гідрофобності шару кутикули. Так, у відповідь на стресову дію важких металів в складі поверхневих ліпідів листків *B. pendula* з'являлися стероли, а у *P. deltoides* – тригліцериди. Крім того, у *B. pendula* і *S. aucuparia* ідентифікувалися вільні жирні кислоти, а у *P. deltoides* їх кількість підвищувалася на 7%, що, ймовірно, обумовлене гідролізом на 6-8% фосфоліпідів і дигліцеридів (рис. 3 в, г), чи посиленням процесів ПОЛ в результаті впливу токсикантів.

Як підкреслює Глубока (2004), збільшення вмісту вільних жирних кислот є також регуляторним актом, адже вони можуть слугувати тригерами відповідних реакцій на дію зовнішніх чинників, а їх концентрація зростає від зменшення витрачання цих речовин як проміжних продуктів.

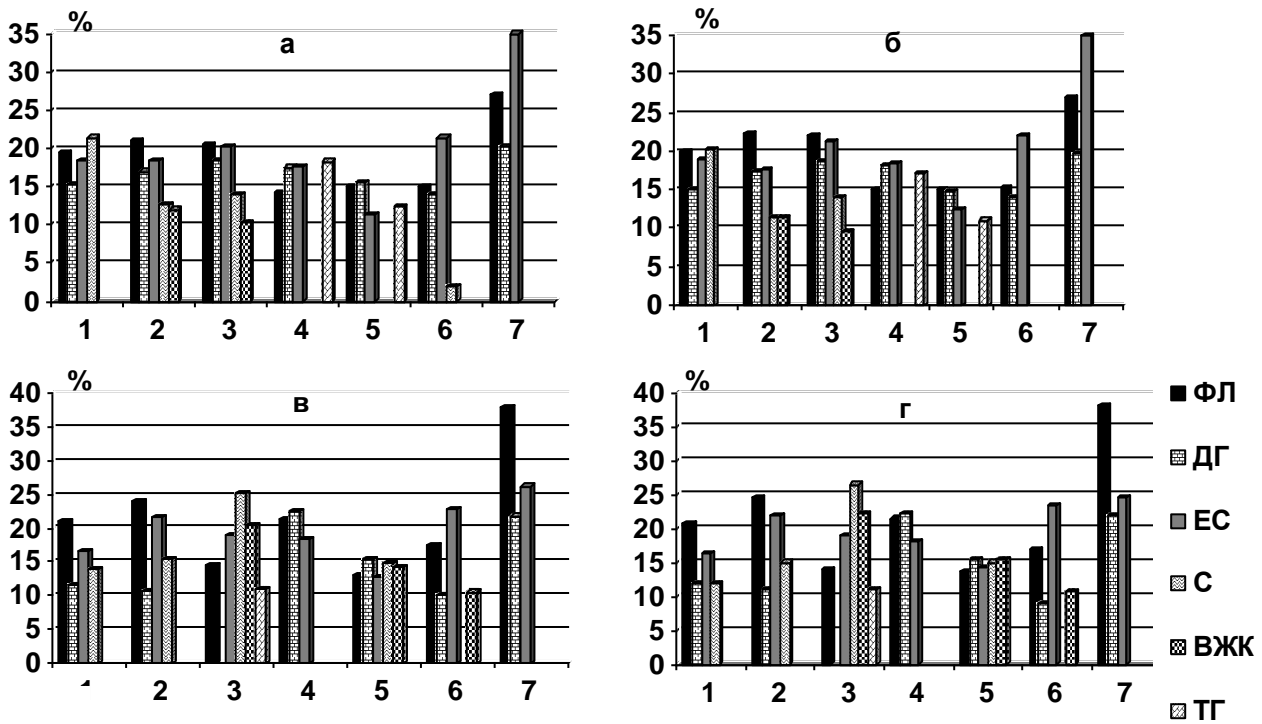


Рис. 3. Вміст основних фракцій поверхневих ліпідів у листках рослин в умовах контролю на 5-10 (а) і 80-85 (б) доби фази завершення їх росту, та в зоні сильного забруднення на 5-10 (в) і 80-85 (г) доби фази завершення їх росту, % від загальної суми ліпідів: 1 – *A. hippocastanum*, 2 – *A. negundo*, 3 – *P. deltooides*, 4 – *P. italica*, 5 – *V. pendula*, 6 – *S. aucuparia*, 7 – *T. cordata*, ФЛ – фосфоліпіди, ДГ – диґліцериди, ЕС – етери стеролів, С – стероли, ВЖК – вільні жирні кислоти, ТГ – триґліцериди.

В промислових умовах на обох етапах фази завершення росту листків у видів з високим та середнім акумуляційним потенціалом (*P. italica*, *S. aucuparia*, *A. negundo* і *T. cordata*) на 5-10% у поверхневому шарі кутикули листків зростала кількість фосфоліпідів (рис. 3 в, г). Вміст диґліцеридів в асиміляційних органах більшості видів знизився до 6%, тоді як у *P. deltooides* виявлено редукцію їх кількості на 98%.

За дії токсикантів у більшості деревних видів на 3-7% зростав рівень стеролів та їх етерів, що, ймовірно, свідчить про їх залучення в адаптаційні процеси рослин в змінених умовах довкілля в якості сигнальних молекул, як наголошують Gül (2006) і Schrick (2006). Крім того, стероли та їх етери регулюють проникність поверхневого шару кутикули листків (Gulz, 1992; Sebastiani, 2014). На відміну від цього, у *A. hippocastanum* і *P. deltooides* кількість етерів стеролів навпаки зменшувалася на 3% (рис. 3 в, г), що може пояснюватись порушенням процесу етерифікації і свідчити про пошкодження кутикули.

Виявлені зміни вмісту та складу поверхневих ліпідів свідчать про особливості систем регуляції й інтеграції окремих елементарних реакцій, які в подальшому можуть реалізуватися на рівні функції стійкості організмів до дії промислового забруднення.

Активність ліпаз в асиміляційних органах деревних рослин за різного рівня забруднення. Надлишковий вплив важких металів призводив, як правило, до зростання ліпазної активності в листках деревних рослин в основному за рахунок її кислих форм. Так, у видів з високим і середнім акумуляційним потенціалом (*P. italica*, *S. aucuparia*, *P. deltoides*, *A. negundo* і *T. cordata*) встановлено збільшення до 80% активності кислих форм ферменту, тоді як для лужних характерною була статистично достовірна їх інактивація до 20%. Пригнічення активності лужної ліпази, скоріш за все, може бути пояснено «вигоранням» полієнових жирних кислот внаслідок активації процесів ПОЛ. У видів з низьким акумуляційним потенціалом (*A. hippocastanum* і *B. pendula*) надлишковий вміст важких металів у тканинах листків більш значуще (у 2,3-2,6 рази відносно контролю), ніж для попередніх груп видів, інгібував активність кислих форм ліпаз, що порушувало загальний ліпідний метаболізм рослин і пригнічувало їх захисні реакції.

Результати дослідження дозволяють констатувати, що в інтактних рослинах інтенсивність функціонування ліпаз зумовлена переважно їхніми лужними формами, а найвища ферментативна активність була притаманна *S. aucuparia* і *B. pendula*. Надлишковий вміст важких металів призводив до інгібування активності кислих форм ферменту в більшій мірі у видів з низьким акумуляційним потенціалом, порівняно з високим та середнім.

Аналіз полярних складових поверхневого шару кутикули листків деревних рослин за впливу промислових викидів з вмістом важких металів. Встановлено, що серед компонентів поверхневого шару кутикули листків контрольних рослин *P. italica* переважали прості ароматичні сполуки, включаючи *meta*-тополін, і феноли (видоспецифічні для роду *Populus* (Chunlong, 2008; Tsai, 2006)), прості фенілпропаноїди й цинамати (похідні коричної й оксикоричних кислот), ди- й тригідрокси-кумарини, середньо- та низько-полярні терпеноїди (рис. 4).

У поверхневому шарі листків *S. aucuparia* вперше ідентифіковані сорбінова і парасорбінова кислоти, які до цього знаходили в плодах (Raspe, 2000; Гостищев, 2010; Асбаганов, 2014). На відміну від *P. italica*, у *S. aucuparia* рівень вторинних метаболітів був вищим і ширшим (рис. 5). Так, у контрольних рослин ідентифіковано бензилові спирти, проантоціанідинові флавоноїди, біфеніли і лігнани, а також перегруповані евдесманові й кадинанові сесквітерпеноїди, які Loreto (2010) і Chadwick (2013) вважають «захисними факторами» до дії озону і сірководню.

Доведено, що надлишок важких металів у видів з високим акумуляційним потенціалом призводить до суттєвих змін високополярних вторинних метаболітів у складі поверхневого шару кутикули листків (рис. 4, 5). Так, у *P. italica* кількість *meta*-тополіну зростала більш, ніж у 200 разів, а рівень сорбінової і парасорбінової кислот у *S. aucuparia* зменшувався в понад 7 разів.

В промислових умовах незначне зниження рівня терпеноїдів у обох видів свідчило про відносну стабільність поверхневого шару кутикули. Проте, більшим вмістом та різноманітнішим спектром цих сполук володіла *S. aucuparia*. Поряд з цим, у *P. italica* майже в 9 разів, порівняно з контролем, збільшувався рівень

простих ароматичних сполук і фенолів, тоді як у *S. aiscuparia* – у 1,8 рази кількість флаван-3,-4-олів та проантоціанідинових флавоноїдів. Зазначені сполуки характеризуються високою антиоксидантною активністю (Olszewska, 2011).

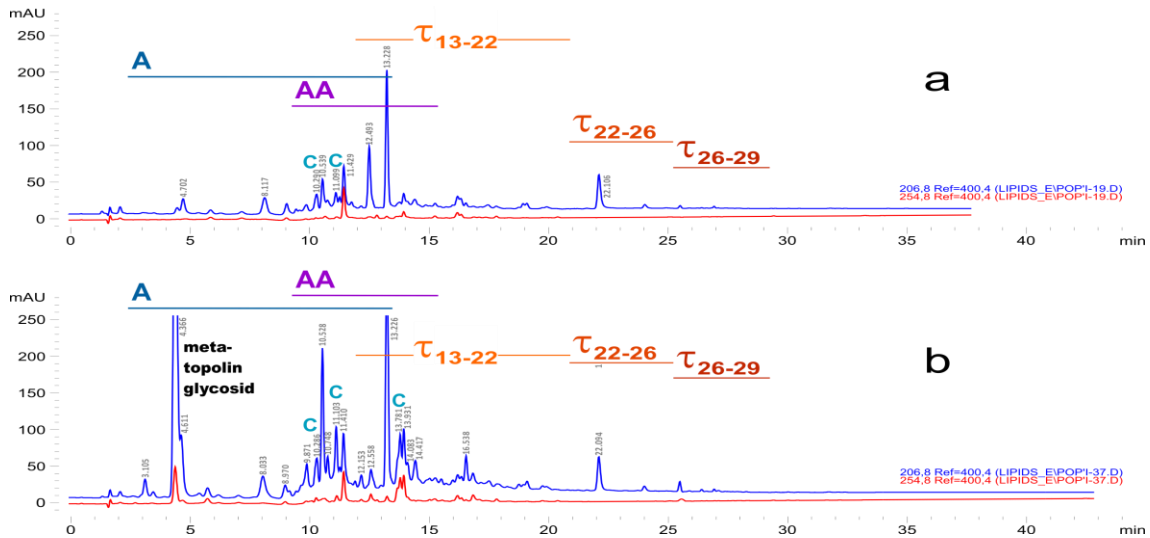


Рис. 4. Хроматографічні профілі компонентів поверхневого шару кутикули листків *P. italica*: **a** – контроль, **b** – зона сильного забруднення. Тут і на рисунках 5, 6, 7, 8 і 9: **A**, **AA** – прості ароматичні сполуки і феноли; **B** – аліфатичні алкенові кислоти, ефіри і лактони; **C** – прості фенолпропаноїди і циннамати (похідні коричної й оксикоричної кислот); **P** – нерозгалужені алкенові карбонові кислоти і лактони (сорбінова та парасорбінова кислоти); **F**, **F1**, **F2** – флавоноїди, дегідрофлавоноли і халкони; **D** – флаван-3,-4-оли (катехіни) і проантоціанідинові флавоноїди; **E** – біфеніли і лігнани; τ_{13-22} – середньо-полярні терпеноїди; τ_{22-26} – низько-полярні терпеноїди; τ_{26-29} – неполярні терпеноїди; **T*** – перегруповані евдесманові та кадинанові сесквітерпеноїди (захисні фактори); **Tr** – фітанові дитерпеноїди (захисні фактори), **T4** – тетратерпеноїди, **To** – олеананові тритерпеноїди, **T0** – гемітерпеноїди, каріофіланові сесквітерпеноїди; **S** – стероли, стигмастанові, ергостанові стероїди, **TAG** – тригліцериди.

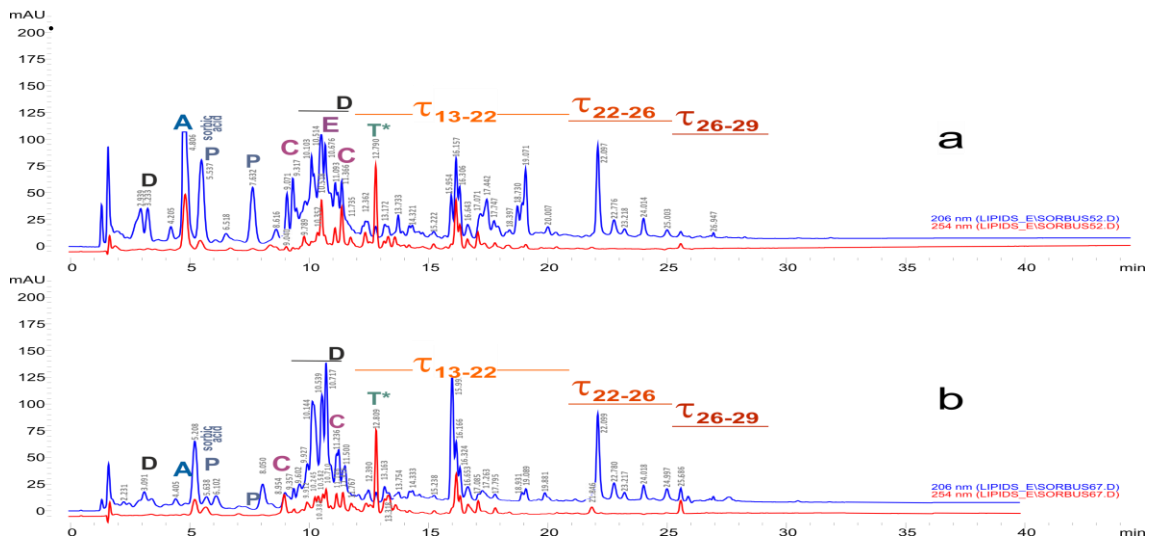


Рис. 5. Хроматографічні профілі компонентів поверхневого шару кутикули листків *S. aiscuparia*: **a** – контроль, **b** – зона сильного забруднення.

В умовному контролі види з середнім рівнем акумуляції важких металів (*A. negundo* і *T. cordata*) у поверхневому шарі кутикули містили значну кількість флавоноїдів, терпеноїдів, а також стеролів, стігмастанових і ергостанових стероїдів (рис. 6, 7).

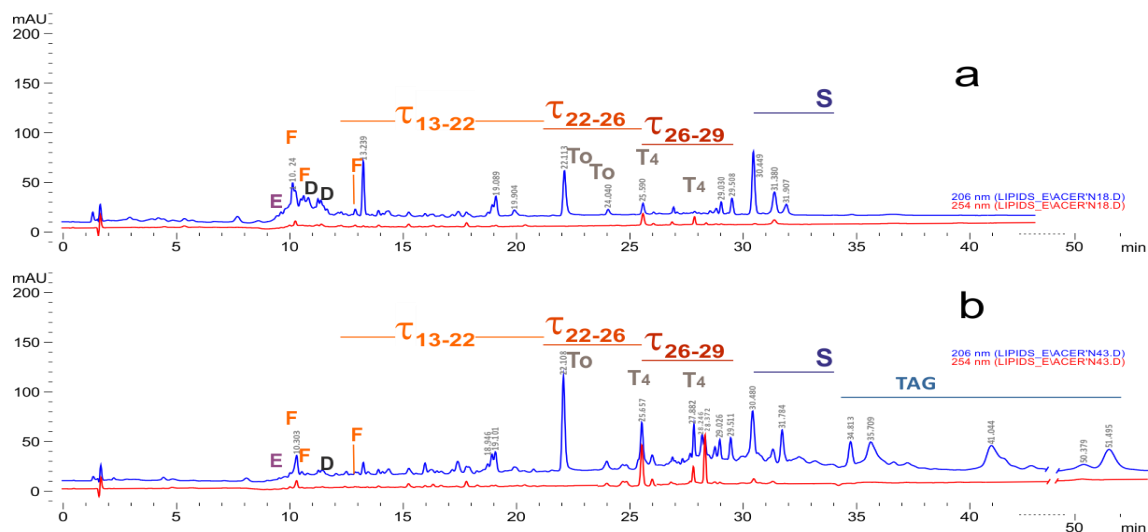


Рис. 6. Хроматографічні профілі компонентів поверхнього шару кутикули листків *A. negundo*: а – контроль, б – зона сильного забруднення.

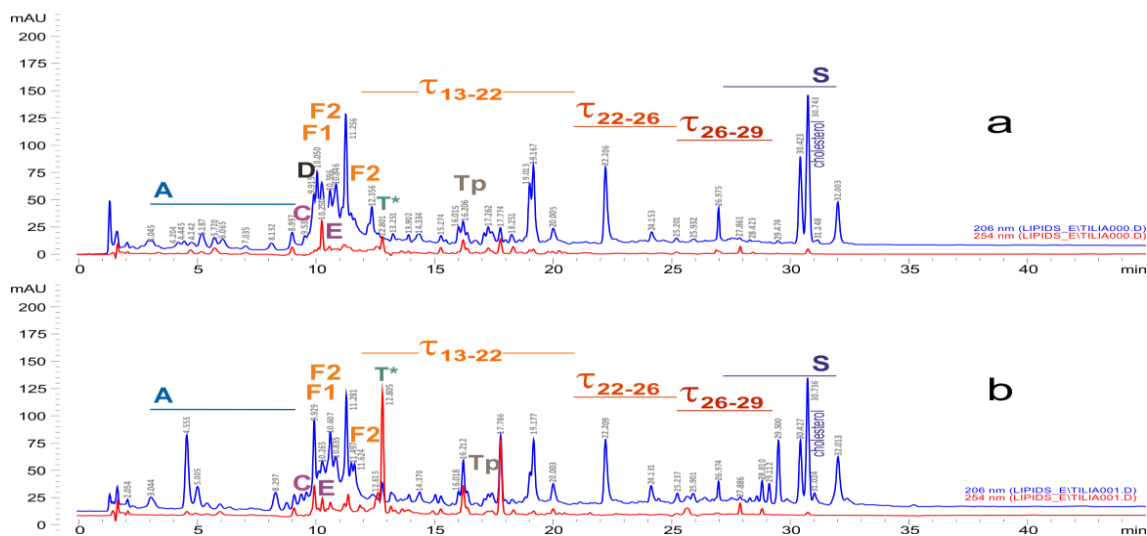


Рис. 7. Хроматографічні профілі компонентів поверхнього шару кутикули листків *T. cordata*: а – контроль, б – зона сильного забруднення.

Для *A. negundo* характерною була наявність олеананових тритерпеноїдів і тетратерпеноїдів, тоді як для *T. cordata* – флаван-3,-4-олів, простих ароматичних сполук і фенолів, біфенілів і лігнанів, перегрупованих евдесманових і кадинанових сесквітерпеноїдів, а також фітанових дитерпеноїдів.

За промислового забруднення загальною особливістю для зазначених видів було зменшення до 1,5 раза рівня стеролів та збільшення до 8 разів терпеноїдів і до 3,5 раза флавоноїдів (рис. 6, 7). Причому останні вважають універсальними

фізіологічними адаптогенами до дії будь-яких стресорів (Andersen, 2005; Макаренко, 2013), а їх вміст в більшій мірі (в понад 3 рази) зростає у *T. cordata*.

Реалізація фізіолого-біохімічної відповіді на дію важких металів у обох видів проходила за участю стеролів і видоспецифічних терпеноїдів (перегрупованих евдесманових і кадинанових сесквітерпеноїдів, фітанових дитерпеноїдів, олеананових тритерпеноїдів і тетратерпеноїдів), які відіграють роль у регулюванні агрегатного стану поверхневого шару кутикули листків (Schrick, 2006).

Хоча Sardans (2015) і відносить терпеноїди до мінорних компонентів поверхневих ліпідів кутикули листків, наявність саме цих сполук разом із стеролами у багатьох рослин визначає кристалічну структуру кутикулярного шару. Така різноманітність функціональних груп у складі поверхневого шару кутикули та трансформація їх складу за дії поллютантів у згаданих видів сприяють адаптивній регуляції обміну речовин й енергії між деревними рослинами і довкіллям.

У контрольних рослин *A. hippocastanum*, порівняно з *B. pendula*, серед кутикулярних ліпідів ідентифіковані прості фенілпропаноїди і цинамати, аліфатичні алкенові кислоти, холестерол, стигмастанові і ергостанові стероїди та середньо-полярні і неполярні терпеноїди (рис. 8). Натомість у *B. pendula* – флаваноїди і гемітерпеноїди (рис. 9).

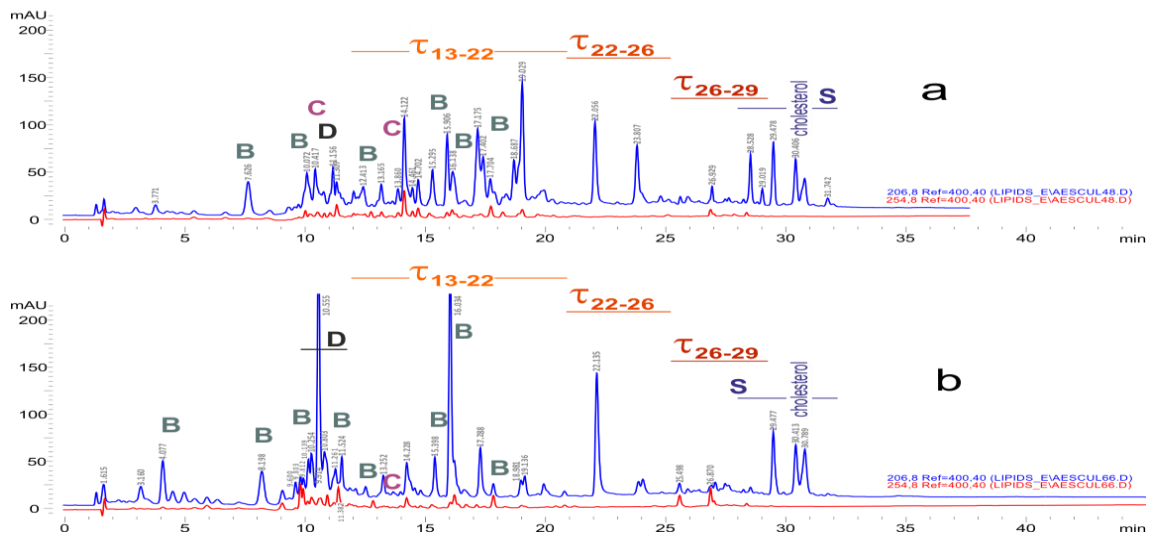


Рис. 8. Хроматографічні профілі компонентів поверхневого шару кутикули листків *A. hippocastanum*: а – контроль, б – зона сильного забруднення.

За стресових умов у видів з низьким акумуляційним потенціалом (*A. hippocastanum* і *B. pendula*) встановлено зниження у 1,5-2,0 рази рівня терпеноїдів і флаваноїдів. Такі зміни у складі поверхневого шару кутикули за свідченням Sardans (2015), Розенцвет (2006) і Andersen (2005) розглядаються як показник адаптивних можливостей видів до різноманітних стресових факторів і певною мірою можуть пояснювати меншу стійкість зазначених видів до дії забруднювачів (Важкі метали..., 2012).

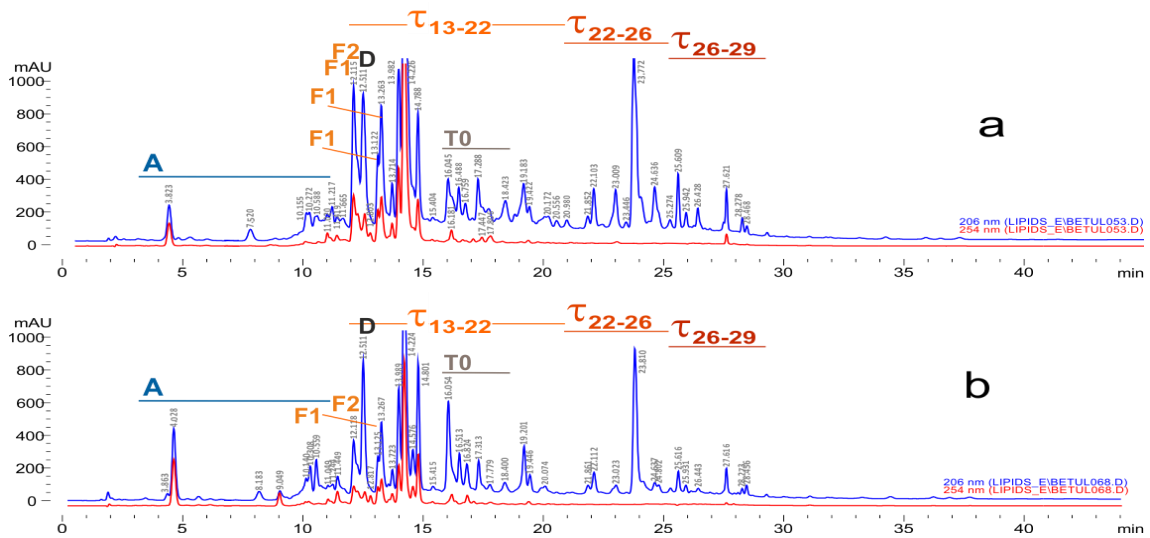


Рис. 9. Хроматографічні профілі компонентів поверхневого шару кутикули листків *B. pendula*: а – контроль, б – зона сильного забруднення.

Оцінка стійкості деревних рослин за дії комплексного забруднення важкими металами. Дослідження механізмів фізіологічної адаптації на рівні процесів ПОЛ та змін складу поверхневого шару кутикули асиміляційних органів деревних видів в умовах забруднення довкілля при виробництві металовмісних пігментів реалізовувались і на рівні морфофізіологічних реакцій рослин. За різного рівня забруднення у *P. bolleana*, *P. italica*, *A. negundo* і *T. cordata* ураження листків хлорозами та некрозами не перевищувало 10-15% їх площі, зрідженість крони коливалась від 10 до 28%, сумарний бал ураження становив до 1,5, а 90-100% екземплярів мали стійкий якісний стан. Дані види, для яких притаманний високий і середній акумуляційний потенціал та менша інтенсивність процесів ПОЛ, доцільно рекомендувати для формування санітарно-захисних зон ПАТ «Криворізький суриковий завод». Натомість у *P. deltoides*, *S. aucuparia*, *U. leavis*, *A. hippocastanum* і *B. pendula* листки були на 25-40% уражені некрозами і хлорозами, на стовбурах зустрічалися на 20-25% більші за розмірами морозобоїни, скелетні гілки ушкоджувалися судинними гнилями, а зрідженість крони сягала понад 30%. Рослини цієї групи характеризуються нестійким якісним станом у 30-60% особин, сумарним балом ушкоджень до 2,2 і знаходяться на різних стадіях відмирання чи значно пригнічені. Насадження з таких видів (переважно з низьким рівнем біологічної акумуляції важких металів) на вказаному заводі потребують часткової або повної реконструкції.

ВИСНОВКИ

На основі системного аналізу метаболічних трансформацій компонентного складу ліпідів поверхневого шару кутикули листків, процесів пероксидного окиснення ліпідів, активності ліпаз та рівня ушкодження рослин встановлена видоспецифічність при формуванні фізіологічної стійкості деревних видів на промислове забруднення важкими металами.

1. За рівнем акумуляції цинку, нікелю, плумбуму і кадмію листками дослідні види розділені на три групи: I – з високим акумуляційним потенціалом (перевищення фонового рівня більше ніж у 5 разів) включає *P. bolleana*, *P. italica* і *S. aucuparia*; II – з середнім акумуляційним потенціалом (перевищує фоновий рівень у 3-5 разів) включає *P. deltoides*, *T. cordata* і *A. negundo*; III – з низьким акумуляційним потенціалом (перевищує фоновий рівень до 2,5 разів) включає *A. hippocastanum*, *U. laevis* і *B. pendula*.

2. Доведено, що на початковому етапі морфогенезу листків у видів з високим і середнім акумуляційним потенціалом забруднення спричинювало підвищення вмісту дієнових і триєнових кон'югатів в 1,3-1,7 рази. Наприкінці фази завершення росту листків їх кількість знижувалась (особливо дієнових кон'югатів), що свідчить про поглиблення стресового навантаження.

3. За сильного рівня забруднення у видів з високим і середнім акумуляційним потенціалом (*P. bolleana*, *P. italica*, *S. aucuparia*, *T. cordata* і *A. negundo*) вміст ТБК-активних сполук зростав до 1,7 раза, тоді як у видів з низьким рівнем акумуляції токсикантів (*A. hippocastanum*, *U. laevis* і *B. pendula*) – у 2,5-3,9 разів, що і обумовлювало вищу фізіологічну стійкість перших двох груп видів в змінених умовах довкілля.

4. Зростання вмісту фосфоліпідів, етерів стеролів і вільних жирних кислот, на тлі зменшення частки ди- і тригліцеридів у видів з високим та середнім акумуляційним потенціалом (*P. italica*, *A. negundo*, *S. aucuparia* і *T. cordata*) свідчить про видоспецифічність систем регуляції й інтеграції окремих елементарних реакцій, які в подальшому реалізуються у формуванні стійкості організмів до дії промислового забруднення.

5. Доведено, що у видів з низьким акумуляційним потенціалом (*U. laevis*, *A. hippocastanum* і *B. pendula*) посилення процесів пероксидації призводило до інгібування активності кислих форм ліпаз у 2,3-2,6 рази, а у більш стійких видів (*P. bolleana*, *P. italica* і *S. aucuparia*) – навпаки до їх активації майже в 2 рази, тоді як активність лужних ліпаз зменшувалась на 20%.

6. Вперше у складі поверхневого шару кутикули листків *T. cordata* ідентифіковані фітанові дитерпеноїди, а у *S. aucuparia* – сорбінова і парасорбінова кислоти, які раніше знаходили в плодах. У *A. negundo*, *T. cordata* і *A. hippocastanum* виявлено значну кількість стеролів, стигмастанових і ергостанових стероїдів, які разом з терпеноїдами регулюють агрегатний стан поверхневого шару кутикули.

7. У видів з високим акумуляційним потенціалом вплив полютантів викликав збільшення рівня сполук з високою антиоксидантною активністю: у *P. italica* до 9 разів простих ароматичних сполук і фенолів, а у *S. aucuparia* до 1,8 разів флаван-3-,4-олів і проантоціанідинових флавоноїдів.

8. Вперше показана роль терпеноїдів, як складових кутикулярного шару, у формуванні фізіологічної адаптації листків деревних рослин за дії важких металів. У видів з середнім акумуляційним потенціалом загальною особливістю було збільшення до 3 разів флавоноїдів і до 8 разів терпеноїдів (за рахунок їх видоспецифічних складових) та зменшення до 1,5 разів рівня стеролів. Тоді як у видів з низьким акумуляційним потенціалом вміст терпеноїдів і флавоноїдів знижувався в 1,5-2,0 рази.

9. За стійкістю насаджень деревні рослини в промислових умовах розділені на дві групи. До першої, з сумарним балом ураження асиміляційних органів, гілок і стовбуру, що не перевищує 1,5, належать *P. bolleana*, *P. italica*, *A. negundo* та *T. cordata*. Другу складають види із сумарним балом ушкоджень до 2,2 (*P. deltoides*, *S. aucuparia*, *U. leavis*, *A. hippocastanum* і *B. pendula*). Їхні насадження потребують часткової або повної реконструкції. В умовах сильного забруднення важкими металами в озелененні території рекомендовано використовувати види першої групи.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті, що входять до фахових видань України

1. Піскова О.М. (Зубровська О.М.) Особливості акумуляції важких металів та інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у листках деревних рослин під впливом промислових викидів / О.М. Піскова (О.М. Зубровська), В.М. Гришко // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2010. – Вип. 3 (21). – С. 54-62. (Здобувач брала участь в експериментальній частині роботи, аналізі та обговоренні результатів досліджень).
2. Гришко В.М. Процеси пероксидного окиснення ліпідів та зміни кількісного і якісного складу поверхневих ліпідів у *Populus italica* (Du Roi) Moench, *Populus deltoides* Marsh. та *Aesculus hippocastanum* L. за різного рівня забруднення важкими металами / В.М. Гришко, О.М. Піскова (О.М. Зубровська) // Доповіді НАН України. – 2012. – № 8. – С. 123-130. (Здобувач брала участь в експериментальній частині роботи та обговоренні результатів досліджень).
3. Гришко В.М. Особливості акумуляції важких металів у листках деревних рослин при аерогенному забрудненні екотопів / В.М. Гришко, О.М. Піскова (О.М. Зубровська) // Інтродукція рослин. – 2014. – № 1(61). – С. 93-101. (Здобувач брала участь в експериментальній частині роботи, аналізі та обговоренні результатів досліджень).
4. Зубровська О.М. Видоспецифічні зміни кутикулярних ліпідів та процеси пероксидного окиснення ліпідів у листках деревних рослин у промислових умовах / О.М. Зубровська, В.М. Гришко // Біологічні студії. – 2016. – Т. 10, № 3-4. – С. 47-60. (Здобувач брала участь в експериментальній частині роботи, аналізі та обговоренні результатів досліджень).

Статті які входять до наукометричних баз цитування

5. Гришко В.М. Накопичення важких металів та перебіг вільнорадикальних реакцій в асиміляційних органах деревних рослин в умовах забруднення / В.М. Гришко, О.М. Зубровська // Физиология растений и генетика. – 2015. – Т. 47, № 1(273). – С. 47-57. (Здобувач брала участь в експериментальній частині роботи, аналізі та обговоренні результатів досліджень).
6. Зубровська О.М. Зміни складу поверхневих ліпідів кутикули *Populus italica* та *Betula pendula* в умовах забруднення / О.М. Зубровська, В.М. Гришко // Біологічний вісник МГПУ імені Богдана Хмельницького. – 2014. – № 4 (2). – С. 142-158. (Здобувач брала участь в експериментальній частині роботи, аналізі та обговоренні результатів досліджень).

Статті у закордонних фахових виданнях

7. Piskova O. (Zubrovs'ka O.) Intensity of free radical processes in the leaves of arboreal plants under act of industrial dust borne extracts / O. Piskova (O. Zubrovs'ka), V. Gryshko // University of Debrecen Journal of Agricultural Sciences. – 2010. – V. 38. – P. 83-87. (Здобувач брала участь в експериментальній частині роботи та аналізувала результати досліджень).

Статті, які додатково відображають наукові результати дисертації

8. Піскова О.М. (Зубровська О.М.) Оцінка впливу промислового забруднення на процеси пероксидації в листках деревних рослин / О.М. Піскова (О.М. Зубровська), В.М. Гришко // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. – К.: Логос, 2009. – Т.2. – С. 299-305. (Здобувач брала участь в експериментальній частині роботи та аналізувала результати досліджень).

Монографії

9. Важкі метали: надходження в ґрунти, транслокація у рослинах та екологічна небезпека / В.М. Гришко, Д.В. Сищиков, О.М. Піскова (О.М. Зубровська), О.В. Данильчук, Н.В. Машталер. – Донецьк: “Донбас”, 2012. – 306 с. (Здобувач брала участь в експериментальній частині роботи, аналізувала й інтерпретувала дані по вмісту важких металів у ґрунтах і рослинному матеріалі, а також рівню оксидативних процесів у листках деревних рослин, узагальнено результати досліджень)

Матеріали конференцій та тези доповідей

10. Піскова О.М. (Зубровська О.М.) Оцінка чутливості *Sorbus aucuparia* L. та *Aesculus hippocastanum* L. до комплексного забруднення середовища важкими металами в промислових умовах / О.М. Піскова (О.М. Зубровська) // Біологія: від молекули до біосфери: III Міжнародна конференція молодих науковців, 18-22 листопада 2008 р.: матер. – Харків: СПД ФО Михайлов Г.Г., 2008. – С. 291-292.

11. Піскова О.М. (Зубровська О.М.) Акумуляція важких металів та розвиток процесів пероксидації в асиміляційному апараті *Sorbus aucuparia* L. та *Tilia cordata* Mill. в промислових умовах / О.М. Піскова (О.М. Зубровська) // Молодь і поступ в біології: V Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів, 12-15 травня 2009 р.: тези. – Т. 1. – Львів, 2009. – С. 217-218.

12. Піскова О.М. (Зубровська О.М.) Інтенсивність процесів пероксидації в листках деревних рослин за комплексного забруднення пиловими викидами з підвищеним вмістом важких металів / О.М. Піскова (О.М. Зубровська) // Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів: XI конференція молодих вчених, 22-24 червня, 2010 р.: матер. – Київ, 2010. – С. 144-145.

13. Писковая О.Н. (Зубровская О.Н.) Особенности аккумуляции тяжелых металлов и продуктов ПОЛ в листьях древесных растений при стрессовом воздействии / О.Н. Писковая (О.Н. Зубровская), В.Н. Гришко // Растение и стресс (Plant under Environmental Stress): Всероссийский симпозиум, 9-12 ноября 2010 г.: тез. докл. – Москва, 2010. – С. 283-284.

14. Піскова О.М. (Зубровська О.М.) Визначення інтенсивності процесу пероксидного окиснення ліпідів у деревних рослин за дії сполук важких металів / О.М. Піскова (О.М. Зубровська) // XIII з'їзд Українського ботанічного

товариства, 19-23 вересня 2011 р.: матер. – Львів, 2011. – С. 452.

15. Піскова О.М. (Зубровська О.М.) Зміни поверхневих ліпідів кутикули листків деревних рослин в промислових умовах / О.М. Піскова (О.М. Зубровська) // Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів: XII конференція молодих вчених, 15-16 листопада, 2012 р.: матер. – К.: ІФРГ НАНУ, 2012. – С. 122-123.

16. Писковая О.Н. (Зубровская О.Н.) Воздействие промышленного загрязнения на изменение липидных компонентов кутикулы листьев *Populus deltoides* Marsh. и *Tilia cordata* Mill. / О.Н. Писковая (О.Н. Зубровская), В.Н. Гришко // Инновационные направления современной физиологии растений: Всероссийская научная конференция с международным участием, 2-6 июня 2013 г.: тез. докл. – М. – 2013 г. – С. 318.

17. Зубровська О.М. Оцінка впливу промислових викидів з вмістом важких металів на асиміляційні органи деревних рослин / О.М. Зубровська // Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні і генетичні аспекти: III Міжнародна наукова конференція, 11-12 листопада, 2014 р.: тези доп. – Х.: ХНУ ім. В.Н. Каразіна, 2014. – С. 112-113.

18. Зубровська О.М. Особливості ліпідного обміну в асиміляційних органах деревних рослин при забрудненні довкілля важкими металами / О.М. Зубровська, В.М. Гришко // Інтродукція рослин, збереження та збагачення біорізноманіття в ботанічних садах та дендропарках: Міжнародна наукова конференція присвячена 80-річчю від дня заснування Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка, 15-17 вересня 2015 р.: матер. – Київ: Фітосоціоцентр, 2015. – С. 87-88.

19. Зубровская О.Н. Кутикулярные липиды и процессы перекисного окисления липидов в листьях древесных растений в условиях загрязнения тяжелыми металлами / О.Н. Зубровская, В.Н. Гришко, В.П. Грахов // Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений: научная конференция для молодых ученых, 23-27 ноября 2015 г.: матер. – Москва: ИФР РАН, 2015. – С. 775-780.

20. Зубровська О.М. Оцінка стійкості деревних рослин за дії комплексного забруднення важкими металами / О.М. Зубровська // Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів: XIII конференція молодих вчених, 19-20 травня 2016 р.: матер. – К., 2016. – С. 21-23.

АНОТАЦІЯ

Зубровська О.М. Ліпіди та вторинні метаболіти кутикули листків у адаптаційних реакціях деревних рослин за дії важких металів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.12 – фізіологія рослин. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2017.

У дисертації досліджено особливості фізіологічної адаптації різних за стійкістю деревних рослин за впливу промислового забруднення з вмістом надлишку важких металів, яка реалізується через інтенсивність процесів ПОЛ,

активність ліпаз та зміну компонентного складу поверхневого шару кутикули листків.

Встановлено видоспецифічне накопичення важких металів у листках рослин на різних стадіях їх морфогенезу. За рівнем акумуляції цинку, нікелю, плюмбуму і кадмію дослідні види були поділені на три групи. З'ясовано, що сумісний вплив важких металів індукує розвиток вільнорадикальних реакцій, який проявляється у збільшенні рівня первинних продуктів пероксидації і ТБК-активних сполук. Доведено, що у видів з низьким акумуляційним потенціалом (*U. laevis*, *A. hippocastanum* і *B. pendula*) посилення вільнорадикальних процесів призводило до інгібування в 2,3-2,6 рази активності кислих форм ліпаз, а у більш стійких видів (*P. bolleana*, *P. italica* і *S. aucuparia*) – активації їх майже в 2 рази, тоді як активність лужних ліпаз знижувалась на 20%.

Вперше виявлено мінливість складу та новоутворення/деградацію певних компонентів поверхневого шару кутикули листків, що суттєво впливають на гідрофобність та проникність кутикули і забезпечують стійкість деревних рослин в умовах забруднення. Вперше показані зміни складу терпеноїдів, зумовлені перегруповуванням таких захисних сполук як евдесманові і кадинанові сесквітерпеноїди та фітанові дитерпеноїди. Вперше у складі поверхневого шару кутикули листків *T. cordata* ідентифіковано фітанові дитерпеноїди, а у *S. aucuparia* – сорбінова та парасорбінова кислоти, які раніше знаходили в плодах рослин. Отримані дані свідчать про задіяність трансформацій поверхневих ліпідів кутикули та процесів ПОЛ у адаптивних механізмах деревних рослин в умовах промислового забруднення територій важкими металами. Дослідження видоспецифічних проявів фізіологічної стійкості видів в умовах забруднення довкілля реалізовувались і на рівні морфологічних реакцій рослин. На підставі визначення рівня ураження асиміляційних органів, гілок і стовбуру було розроблено і впроваджено асортимент рослин для озеленення зон сильного рівня забруднення ПАТ «Криворізький суриковий завод».

Ключові слова: деревні рослини, важкі метали, фізіологічна адаптація, пероксидне окиснення ліпідів, склад поверхневого шару кутикули, ліпаза, терпеноїди, стійкість.

АННОТАЦІЯ

Зубровская О.Н. Липиды и вторичные метаболиты кутикулы листьев в адаптивных реакциях древесных растений на действие тяжелых металлов. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.12 – физиология растений. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2017.

В диссертации исследованы видоспецифические характеристики процессов ПОЛ, активности липаз и компонентного состава поверхностного слоя кутикулы листьев при формировании физиологической адаптации древесных растений к

действию промышленного загрязнения с содержанием избытка тяжелых металлов.

Установлено особенности накопление тяжелых металлов в листьях растений на разных стадиях их морфогенеза. По уровню аккумуляции цинка, никеля, свинца и кадмия исследуемые виды были разделены на три группы. Выявлено, что совместное действие тяжелых металлов индуцирует развитие свободнорадикальных реакций, которое проявляется в увеличении уровня первичных продуктов пероксидации и ТБК-активных соединений. Формирование реакции-ответа растений на действие ионов металлов сопровождалось активацией/инактивацией липазы. У видов с низким аккумуляционным потенциалом (*U. laevis*, *A. hippocastanum* и *B. pendula*) обнаружено ингибирование активности фермента в 2,3-2,6 раза, преимущественно его кислых форм, а у видов с высоким уровнем аккумуляции тяжелых металлов (*P. bolleana*, *P. italica* и *S. aucuparia*) – их активность наоборот повышалась в 1,7-2 раза, тогда как щелочных форм – снижалась на 20%.

Впервые установлена изменчивость количественного и качественного состава, а также новообразование/деградация компонентов поверхностного слоя кутикулы листьев, которые влияют на гидрофобность и проницаемость кутикулы и обеспечивают устойчивость древесных растений в условиях загрязнения. Впервые показана роль различных классов терпеноидов, среди которых перегруппированные эвдесмановые, кадиановые сесквитерпеноиды и фитановые дитерпеноиды («защитные факторы»), в формировании физиологической адаптации древесных растений при действии металлосодержащих промышленных выбросов. Качественное и количественное соотношение терпеноидов формирует гетерогенность их состава, обеспечивая молекулярно-динамическое состояние поверхностного слоя кутикулы, обеспечивая видоспецифическую пластичность древесных видов. Впервые в составе поверхностного слоя кутикулы листьев *T. cordata* обнаружено присутствие фитановых дитерпеноидов, а у *S. aucuparia* – сорбиновой и парасорбиновой кислот, которые раньше находили в плодах. Кроме того, на поверхности кутикулы у *A. negundo*, *T. cordata* и *A. hippocastanum* в значительных количествах обнаружены стерины, стигмастановые и эргостановые стероиды, которые вместе с терпеноидами регулируют и обеспечивают агрегатное состояние поверхностного слоя кутикулы.

Полученные данные расширяют представления об адаптивных возможностях древесных растений в промышленных условиях. Исследования видоспецифических проявлений физиологической устойчивости видов в условиях загрязнения реализовывались и на уровне морфофизиологических реакций растений. На основании определения уровня повреждения ассимиляционных органов, веток и ствола разработано и предложено ассортимент растений для озеленения зон сильного загрязнения ЧАО «Криворожский суриковый завод».

Ключевые слова: древесные растения, тяжелые металлы, физиологическая адаптация, перекисное окисление липидов, состав поверхностного слоя кутикулы, липаза, терпеноиды, устойчивость.

ANNOTATION

Zubrovskaya O.M. Lipids and cuticles secondary metabolites of trees foliage in the adaptation reactions under the actions of heavy metals. – Manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Biological Sciences: speciality 03.00.12 – plant physiology. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2017.

It was investigated in the thesis features of physiological adaptation of different trees under the influence of industrial pollution containing excess heavy metals which is implemented via the intensity of lipid peroxidation, activity of lipase and change the components composition of the surface layer of the cuticle of foliage.

It was established species-specific accumulation of heavy metals in the foliage of plants on various stages of morphogenesis. Experimental species were divided into three groups according to level of accumulation of zinc, nickel, lead and cadmium. It was found that compatible impacts of heavy metals induce the development of free radical reactions which is accompanied in increasing the level of primary peroxidation products and TBA-active compounds.

It was revealed for the first time the variability of the composition and neoplasm's / degradation of certain components of the surface layer of the cuticle which significantly affect the hydrophobicity and permeability of the cuticle and provide stability trees to pollution. It was shown for the first time the changes in the composition terpenoids.

For the first time, the composition of the surface layer of the cuticle of the foliage *T. cordata* was identified by phytanic diterpenoids and in *S. aucuparia* – sorbic acid and para-sorbic acid, which were previously found in plant fruit. The obtained data testify to the involvement of transformations of surface lipids of the cuticle and the processes of the lipid peroxidation in adaptive mechanisms of trees under conditions of industrial pollution of territories by heavy metals. Investigations of species-specific physiological manifestations on stability of types of pollution were implemented at the level morphophysiological reactions of plants. There are ranges of plants which developed and implemented for territories of heavy pollution.

Key words: trees, heavy metals, physiological adaptations, lipid peroxidation, the composition of the surface cuticle leaves, lipases, terpenoids, stability.

ЗУБРОВСЬКА Ольга Миколаївна

**Ліпіди та вторинні метаболіти кутикули листків
у адаптаційних реакціях деревних рослин за дії важких металів**

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 03.00.12 – фізіологія рослин

Підписано до друку 13.02.2018.
Формат 60×84/16. Ум. др. арк. – 1,28. Авт. арк. – 0,9.
Тираж – 100 пр.

Друкарня С. Г. Щербенка «Літерія»
вул. Рокоссовського, 5/3, м. Кривий Ріг, 50027
097-192-20-77

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4561 від 13.06.2013 р.