

УДК 57.044

doi: 10.26907/2542-064X.2019.1.93-107

## ФЕНОЛЬНАЯ СИСТЕМА ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ г. ТЮМЕНИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

*А.С. Петухов, Н.А. Хрнтохин, Г.А. Петухова, Т.А. Кремлева*  
*Тюменский государственный университет, г. Тюмень, 625003, Россия*

### Аннотация

Исследовано содержание тяжелых металлов, фенолов и флавоноидов в травянистых растениях г. Тюмени из различных техногенных зон. Отобраны мятлик луговой (*Poa pratensis*), клевер красный (*Trifolium rubens*), ромашка (*Matricaria chamomilla*), мать-и-мачеха (*Tussilago farfara*) и мышиный горошек (*Vicia cracca*) в районах металлургического, моторостроительного, нефтеперерабатывающего, аккумуляторного заводов, авто-трассы, а также в условно чистом районе. Обнаружена видоспецифичность по накоплению тяжелых металлов растениями: Fe и Mn наиболее активно аккумулирует мать-и-мачеха, а Cu – мышиный горошек. Аккумуляция Fe в районе металлургического завода выражена наиболее интенсивно по сравнению со всеми изученными районами и металлами. Содержание Pb и Cd в большинстве проб растений было ниже 1.5 и 0.4 мг/кг соответственно. Ответная реакция антиоксидантной системы защиты растений (фенолы и флавоноиды) также была видоспецифичной, наблюдалось как повышение, так и снижение антиоксидантного статуса, что обусловлено различной устойчивостью растений на действие поллютантов. В ряде случаев обнаружены корреляции между содержанием тяжелых металлов и уровнем фенолов и флавоноидов, что указывает на причину биохимического стресса растений.

**Ключевые слова:** тяжелые металлы, фенолы, флавоноиды, антиоксиданты, растения, городская среда

### Введение

Тяжелые металлы (ТМ) являются одними из самых распространенных и опасных экотоксикантов [1]. ТМ и их соединения поступают в окружающую среду в результате выбросов предприятий черной и цветной металлургии, машиностроения, нефтепереработки, тепловых электростанций, автотранспорта. Накопление ТМ в значительной мере зависит от интенсивности использования пестицидов и удобрений [2, 3].

Пути миграции ТМ могут быть различны, но, как правило, они всегда поступают в почву, где поглощаются растениями. Широко известно, что некоторые ТМ необходимы для нормальной жизнедеятельности растений. Однако их накопление выше определенных концентраций подавляет рост и развитие растений, вызывает хлороз и некроз листьев. Опасность ТМ для растений усугубляется наличием кумулятивного эффекта [3].

В основе токсичности ТМ лежит их способность связываться с функциональными группами биомолекул ( $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{SH}$ , остатками фосфорной кислоты в АТФ), что приводит к нарушению структуры и функционирования белков, в том числе ферментов, углеводов и других молекул. Кроме того, ТМ способны замещать эссенциальные элементы из металлсодержащих комплексов [4]. Не менее важным механизмом токсичности в результате аккумуляции ТМ является развитие окислительного стресса. Металлы переменной валентности способны катализировать процессы перекисного окисления липидов и генерировать активные формы кислорода (АФК) по реакциям Фентона и Габера – Вейса. Тяжелые металлы, не обладающие переменной валентностью, способны связываться с молекулами антиоксидантной защиты, а также нарушать электронный транспорт в процессе фотосинтеза и дыхания [5].

Для защиты от окислительного стресса растениям необходимы антиоксиданты. К антиоксидантам, в том числе, относятся растительные фенолы, а также относящиеся к классу фенольных соединений флавоноиды. Последние представляют собой гидроксипроизводные флавонола с различным количеством  $-\text{OH}$ -групп. Фенольные соединения содержатся в растениях в виде гликозидов или в свободном состоянии, встречаются почти во всех растениях в количестве от 0.1% до 7%. Фенолы и флавоноиды принимают участие во многих физиологических процессах, в том числе в фотосинтезе, дыхании, росте, защитных реакциях растений.

Биологическая активность растительных фенолов и флавоноидов представляет интерес для исследования действия антропогенных факторов окружающей среды на уровень флавоноидов в растениях, в том числе в пищевых продуктах. В работе [8] изучено содержание биологически активных соединений, в частности флавоноидов, в 76 видах растений, произрастающих в лесостепной зоне Западной Сибири. В исследовании [9] установлена роль накопления флавоноидов в качестве адаптации к засоленности среды. Ранее исследователями проведено изучение содержания флавоноидов и фенольных соединений в горце птичьим (*Polygonum aviculare*) [10] и растений рода *Spiriaea* L. [11] в условиях городской среды, однако не было изучено содержание поллютантов в растениях, что не позволяет предположить о причине изменения статуса антиоксидантов. В литературе описаны противоречивые результаты о реакции антиоксидантных систем защиты [12], в том числе фенолов и флавоноидов [13, 14], в ответ на накопление ТМ. По всей видимости, ответная реакция растений зависит от условий произрастания, действующего поллютанта и его концентрации, вида растений и других факторов. Тем не менее в имеющейся литературе нами не встречены какие-либо экспериментальные данные по широкому изучению влияния накопления ТМ в растениях различных видов из городской среды на содержание растительных фенолов и флавоноидов.

Целью настоящей работы было изучение влияния аккумуляции ТМ (Cu, Fe, Mn, Pb, Cd) в травянистых растениях различных видов г. Тюмени на содержание растительных фенолов и флавоноидов.

## 1. Материал и методы

Материал для исследования отобран в конце июля 2017 г. в течение 3–4 дней в различных районах г. Тюмени на следующих участках:

- 1) контрольный участок – луг на удалении 5 км от антропогенных источников;
- 2) УГМК – участок на удалении 200 м от предприятия «УГМК-Сталь» вблизи автотрассы;
- 3) УГМК2 – участок на удалении 50 м от предприятия «УГМК-Сталь»;
- 4) ТМС – участок на удалении 200 м от предприятия «Тюменские Моторостроители»;
- 5) НПЗ – участок на удалении 200 м от предприятия Антипинского нефтеперерабатывающего завода;
- 6) АЗ – участок на удалении 200 м от Аккумуляторного завода;
- 7) АТО – автотрасса Тюмень – Омск: район п. Винзили, 30 км от г. Тюмени, интенсивность движения 700 машин в час (в середине дня), удаление от автотрассы не более 30 м;

Срезана надземная часть растений с 5 площадок на каждом участке. На участках 1–5, 7 отобраны 5 видов растений: мятлик луговой (*Poa pratensis*), клевер красный (*Trifolium rubens*), мышиный горошек (*Vicia cracca*), ромашка (*Matricaria chamomilla*), мать-и-мачеха (*Tussilago farfara*). На участке 6 ромашка не обнаружена. Площадь участков составляла не менее 100 м<sup>2</sup>. На каждом участке было собрано не менее 100 растений каждого вида. Отбирали усредненную пробу методом квартования. Выбор растений обусловлен широким распространением данных видов в районах исследования. Элементный анализ растений на содержание ТМ проводили с использованием атомно-абсорбционного спектрофотометра ContrAA 700 фирмы Analytic Jena в экстрактах 1 М HNO<sub>3</sub> [15]. Выбор ТМ (Cu, Mn, Fe, Pb, Cd) для анализа обусловлен высокой распространенностью этих поллютантов в условиях городской среды. Кроме того, Cu, Mn и Fe являются важными микроэлементами для растений, поэтому исследование их влияния на антиоксидантную систему представляет особый интерес. В настоящей работе проанализировано общее содержание химических элементов, без учета форм связывания и степени окисления. В ходе жизнедеятельности растений возможно изменение валентности металлов, при этом метод атомно-абсорбционного анализа не позволяет дифференцировать разные ионы одного и того же элемента. Содержание растительных фенолов в пересчете на танин определяли титрованием водного экстракта растений перманганатом калия по индигокармину до золотисто-желтого окрашивания согласно фармакопейной статье [16]. Определение флавоноидов, родственных рутину, проводилось в спиртовых экстрактах с проведением цветной реакции с хлоридом алюминия и последующим измерением оптической плотности продукта реакции на  $\lambda$  410 нм [17]. Все измерения проводились в трех повторностях. Полученные результаты подвергнуты стандартной статистической обработке с использованием программного обеспечения Statistica 10. Рассчитывали среднее значение, стандартную ошибку, сравнение выборок проводили по *t*-критерию с уровнем доверительной вероятности  $p \leq 0.05$ .

## 2. Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что рост растений в условиях городской среды вблизи промышленных предприятий приводит к накоплению в растениях различных поллютантов, в том числе ТМ. Так, содержание Cu в мышинном

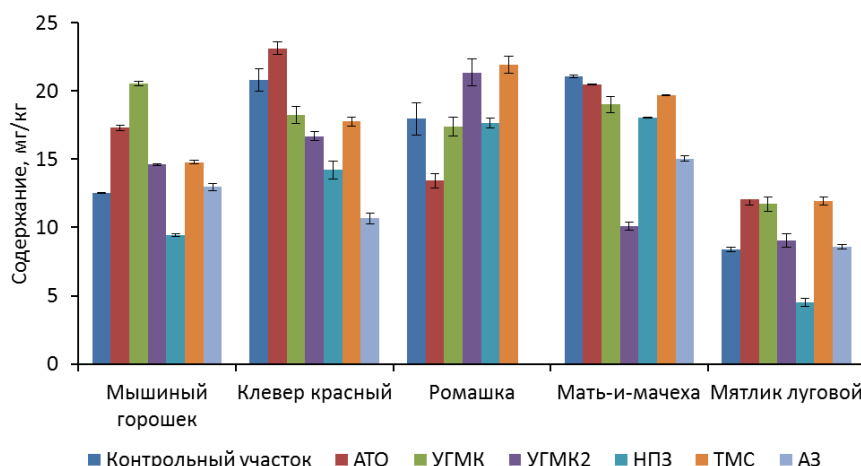


Рис. 1. Содержание Cu в растениях из различных техногенных зон г. Тюмени

горошке на большинстве участков загрязнения на 15–60% выше, чем на контрольном участке (рис. 1). Аккумуляция мятликом луговым выражена слабее: от 8% до 45%. Содержание Cu в ромашке увеличено по сравнению с контрольным вариантом на 20% только на участках УГМК2 и ТМС, а в клевере красном превышение уровня Cu (на 10%) зафиксировано только на участке АТО.

Аккумуляции Cu мать-и-мачехой относительно контроля на исследуемых участках не наблюдалось: содержание Cu, как минимум, на 10% ниже, чем на контрольном участке. Анализ содержания Cu в пробах растений из различных районов г. Тюмени показал, что по способности к аккумуляции Cu исследуемые виды растений можно расположить в следующий ряд: мышиный горошек > мятлик > ромашка > клевер красный > мать-и-мачеха. В целом содержание Cu в растениях городской среды лежит в диапазоне от 5 до 25 мг/кг, то есть в пределах нормальных содержаний, описанных в литературе, хотя содержание Cu, равное 20 мг/кг, в растениях рассматривается как граница, отделяющая область избыточных концентраций [1].

Отличия в содержании Cu между пробами растений могут быть связаны с различной обогащенностью исходных почв этим важным для питания растений микроэлементом. Кроме того, низкое содержание Cu в некоторых пробах с исследуемых участков может быть связано с неблагоприятными условиями для транслокации, в том числе с возможным антагонизмом Cu с другими ТМ, нефтепродуктами или пылевым загрязнением. Растения, произрастающие в районах антропогенного загрязнения, могли выработать механизмы блокирования поступления токсикантов путем их хелатирования в клетках корня или компартментализации в цитоплазме. Кроме того, в изученных участках возможен отбор на генетическом уровне и выживание растений, наиболее приспособленных к данным условиям. Антропогенными источниками Cu в условиях городской среды могут быть коммунальные отходы, продукты коррозии медных трубопроводов, а также сточные воды промышленных предприятий.

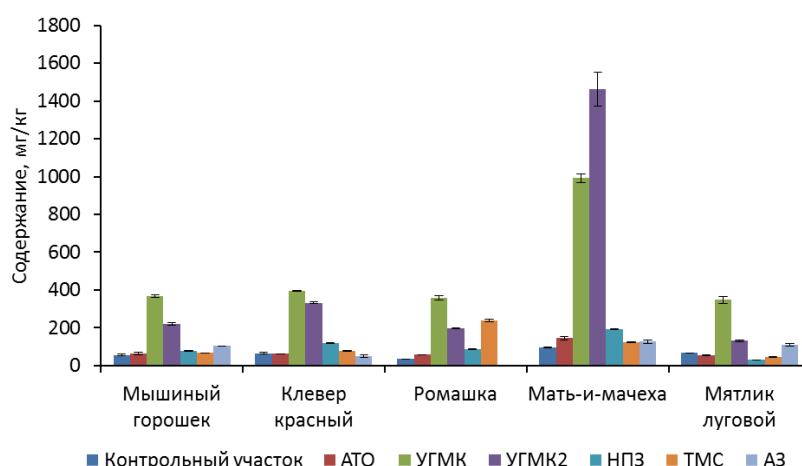


Рис. 2. Содержание Fe в растениях из различных техногенных зон г. Тюмени

Анализ содержания Fe в растениях из различных районов города выявил явную тенденцию всех изученных видов к накоплению Fe по сравнению с контрольным участком (рис. 2). Наибольшая аккумуляция Fe наблюдалась в мать-и-мачехе: превышение контрольного уровня, как минимум, на 30%. Максимальное содержание Fe зафиксировано на участке УГМК2 – 1462 мг/кг, отличие от контроля – в 15 раз. Содержание Fe на участке УГМК ниже почти в 1.5 раза и составило 992 мг/кг, в то время как среднее нормальное содержание Fe в травах составляет до 400 мг/кг [1]. Однако для остальных изученных видов содержание Fe на участке УГМК выше, чем на участке УГМК2, что, вероятно, указывает на воздушный перенос Fe в виде аэрозолей из дымовых труб металлургического завода и большое его рассеяние в атмосфере по мере удаления от завода.

Высокий уровень накопления Fe наблюдался также для ромашки (от 60% до 10 раз на участке УГМК), мышиного горошка (до 6,5 раз), клевера красного (до 6 раз). Наименьшая аккумуляция Fe зафиксирована в мятлике луговом, превышение контрольного уровня обнаружено не на всех участках. Возможно, это связано с активацией защитных барьеров мятлика на пути поступления Fe. Однако даже в мятлике луговом содержание Fe на участках УГМК2 и УГМК выше контрольных в 2 и 5.2 раза соответственно. Наибольшее содержание Fe во всех видах растений обнаружено вблизи металлургического завода в связи с постоянным его поступлением в атмосферу из дымовых труб сталеплавильного производства. Ранее в исследовании [18] было установлено, что древесные растения в районе горно-обогатительного комбината способны накапливать Fe до 1000 мг/кг, что близко к полученным значениям в районе металлургического завода. Наименьшее содержание Fe зафиксировано на районе автотрассы и аккумуляторного завода, так как эти точки находятся на большом удалении от металлургического предприятия.

Аккумуляция Mn изученными видами растений наблюдалась только для мать-и-мачехи, максимальное отличие от контроля на участках УГМК и УГМК2 – в 5.8 и 2.5 раза соответственно (рис. 3). По содержанию как Fe, так и Mn мать-и-мачеха является лидером среди изученных растений, что говорит о том, что этот вид является емким аккумулятором этих металлов.

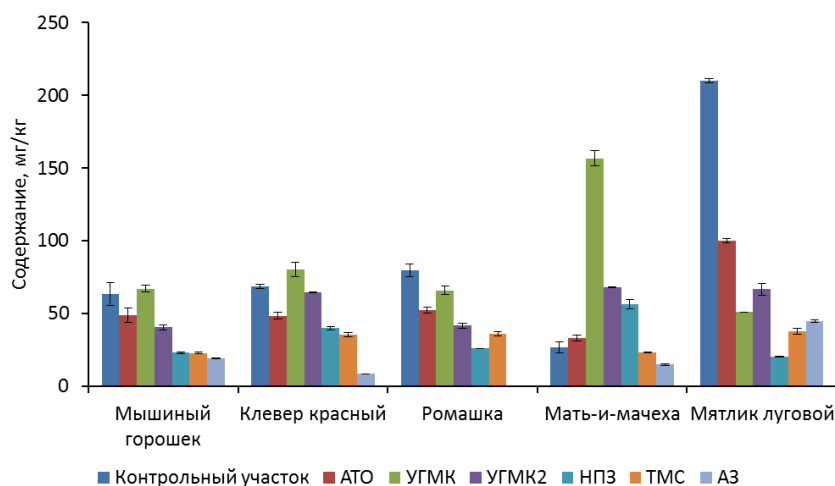


Рис. 3. Содержание Mn в растениях из различных техногенных зон г. Тюмени

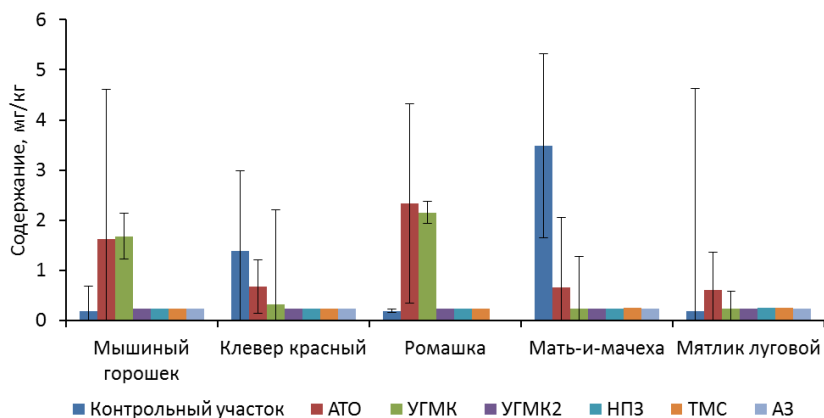


Рис. 4. Содержание Pb в растениях из различных техногенных зон г. Тюмени

Содержание Mn в других видах растений находится либо на уровне контрольных значений, либо ниже их, что может быть объяснено вышеописанными эффектами устойчивости растений. Наиболее выдающийся в этом отношении результат получен для мятлика: содержание Mn в опытных участках в 2 раза ниже, чем в контрольном. В целом это коррелирует с наиболее низкими темпами аккумуляции мятликом Fe и говорит о мятлике как о растении-исключителе Fe и Mn, то есть свойства мятлика и мать-и-мачехи в отношении аккумуляции Fe и Mn противоположны.

Содержание Pb в растениях городской среды, в том числе на участке АЗ, оказалось ниже предела обнаружения используемого оборудования – 0.24 мг/кг (рис. 4). Лишь в некоторых пробах уровень сигнала оказался выше предела обнаружения, но в силу низких концентраций высока экспериментальная погрешность, поэтому сделать статистически значимое заключение невозможно.

Содержание Cd в большинстве проб оказалось также ниже предела обнаружения или на уровне контрольных значений. обнаружено высокое содержание Cd в мышином горошке из контрольного участка (1.21 мг/кг), однако и оно

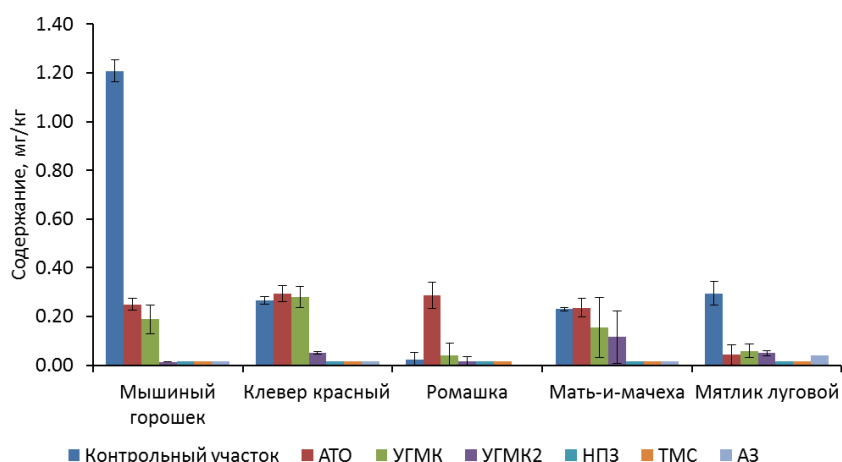


Рис. 5. Содержание Cd в растениях из различных техногенных зон г. Тюмени

в целом соответствует диапазону колебаний естественного содержания Cd в различных травах, описанному в [1] (рис. 5). Ранее было показано [19], что содержание Pb и Cd в подорожнике и ромашке в местах хранения твердых бытовых отходов не превышает 5 и 1 мг/кг соответственно, что согласуется с полученными результатами.

Анализ содержания фенолов (в пересчете на танин) и флавоноидов, родственные рутину, в пробах растений из различных районов г. Тюмени показал видоспецифичность ответной реакции растений на произрастание в техногенных условиях. Так, в мятлике луговом, мышином горошке и красном клевере обнаружено снижение содержания фенольных антиоксидантов по сравнению с контрольным вариантом (рис. 6).

Наибольшее снижение для всех исследуемых участков наблюдалось для мятлика лугового: от 20% на участке АТО до 70% на участке УГМК2. Количество фенольных соединений также резко снижено во всех пробах мышиного горошка: от 12% (АТО) до 75% (УГМК2). В клевере красном содержание фенолов снижено на 30–60% на участках УГМК, НПЗ, ТМС и А3, но не отличалось от контрольных значений на участках АТО и УГМК2.

В клетках клевера красного уровень флавоноидов на всех участках ниже, чем в контроле на 13–30% (рис. 7). Фенолы и флавоноиды способны хелатировать ионы ТМ ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  и др.) за счет гидроксильных, карбонильных и карбоксильных групп в своем составе [6, 7]. Утилизация ТМ приводит к снижению детектируемой концентрации свободных фенолов и флавоноидов [14]. ТМ вызывают рост количества свободных радикалов в клетке из-за смены своей валентности и нарушения функций антиоксидантов [5]. В свою очередь, фенолы и флавоноиды способны быть донорами протона или электрона и тем самым связывать свободные радикалы жирных кислот в клеточных мембранах, вызывающие окислительные процессы. При этом они превращаются в феноксильные радикалы или феноксид-анионы, что также может снижать регистрируемое содержание этих антиоксидантов. Известно, что фенолы являются субстратом для различных пероксидаз [20]. В связи с этим можно предположить, что снижение

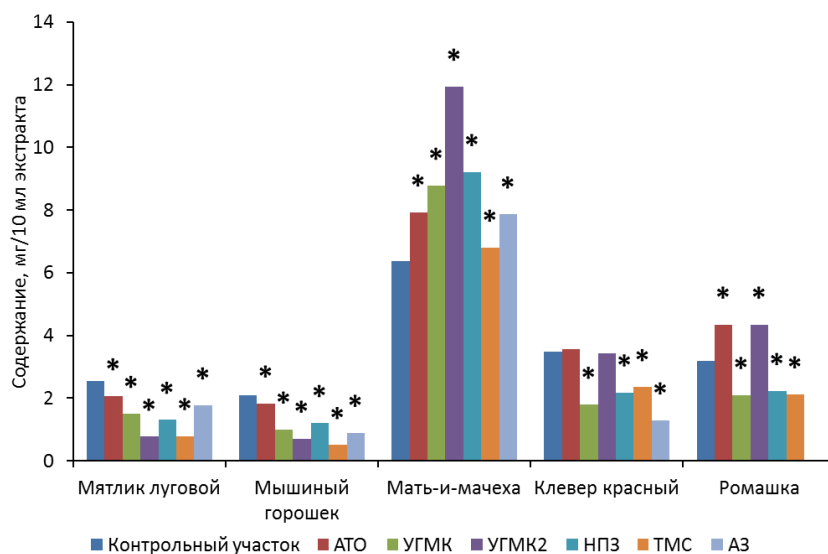


Рис. 6. Содержание фенольных антиоксидантов в растениях из различных техногенных зон г. Тюмени. Звездочкой обозначены статистически значимые ( $p \leq 0.05$ ) различия между контрольным участком и участком загрязнения

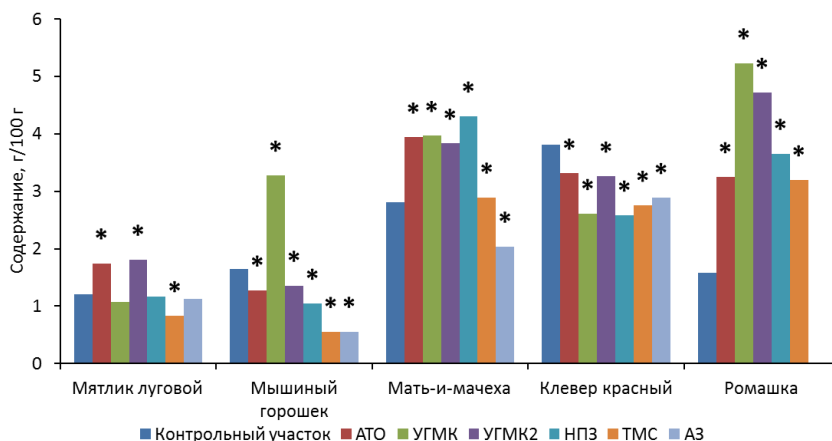


Рис. 7. Содержание флавоноидов в растениях из различных техногенных зон г. Тюмени. Звездочкой обозначены статистически значимые ( $p \leq 0.05$ ) различия между контрольным участком и участком загрязнения

содержания фенольных соединений также может быть вызвано активацией ферментной антиоксидантной системы, которая окисляет фенолы и тем самым утилизирует перекись водорода в клетке, защищая клеточные мембраны и другие биомолекулы от повреждения активными формами кислорода. Однако нельзя исключать то, что сами растительные фенолы и флавоноиды могли стать мишенями для АФК и окисляться до хинонов, что приводит также к снижению уровня фенолов и флавоноидов. Кроме того, вероятно подавление биосинтеза фенольных антиоксидантов поступающими поллютантами за счет повреждения структуры ферментов (синтазы, редуктазы) активными формами кислорода или ТМ из-за наличия  $-SH$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$ ,  $-COOH$  функциональных групп (синтазы,



редуктазы) Снижение содержания флавоноидов в растениях относительно контрольных значений может рассматриваться как ответная реакция организмов на неблагоприятные экологические условия. Было зарегистрировано [10] снижение содержания флавоноидов в горце птичьем в условиях городской среды до 2 раз по сравнению с контрольной зоной.

Количество флавоноидов в мышином горошке в городской среде также снижено на 20–75% (рис. 7). Однако на участке УГМК зарегистрирован резкий рост содержания флавоноидов до 2 раз. Вероятно, близость металлургического завода создает для мышиного горошка такой биохимический стресс, с которым растение пытается справиться именно синтезом флавоноидов. Интересно, что в непосредственной близости к заводу (участок УГМК2) содержание флавоноидов снижено относительно контроля почти на 20%. По всей видимости, приближение к источнику загрязнения создает для растений возрастающее давление, которое приводит к смене активации биохимических механизмов защиты на их подавление. Кроме того, сниженная концентрация флавоноидов может быть вызвана тем, что флавоноиды, выполняя антиоксидантную функцию, превращаются в феноксильные радикалы, которые сами, в свою очередь, способны вызывать окислительные процессы в клетке [13]. Поэтому растения могли выработать определенный механизм устойчивости, связанный со снижением синтеза флавоноидов при сильной антропогенной нагрузке и высокой концентрации феноксильных радикалов в клетке.

Меньше всего содержание флавоноидов в городской среде изменялось в клетках мятлика лугового: на участках УГМК, НПЗ и АЗ отличия от контроля не выявлено (рис. 7). Однако на участке ТМС содержание флавоноидов снижено на 30%, а на участках АТО и УГМК2 уровень флавоноидов повышался до 50%. Влияние поллютантов с автотрассы можно рассматривать как действие источника загрязнения, изолированного от промышленного предприятия, в то время как участок УГМК2 характеризуется высокой антропогенной нагрузкой, связанной с близостью дымовых труб металлургического завода. Повышение содержания флавоноидов в мятлике луговом на этих участках, по всей видимости, говорит о способности мятлика к активации биохимических механизмов защиты в условиях как низкой, так и высокой антропогенной нагрузки, что свидетельствует об устойчивости данного растения к неблагоприятным условиям среды.

Содержание флавоноидов в клетках ромашки в условиях антропогенного загрязнения городской среды резко повышено по сравнению с контрольным уровнем от 2 раз (участок АТО) до 3.3 раз (участок УГМК) (рис. 7). Количество флавоноидов в клетках мать-и-мачехи также повышено по сравнению с контролем до 50% практически на всех исследуемых участках. Вероятно, подобный рост содержания флавоноидов вызван необходимостью растений повышать свой антиокислительный статус в связи с поступлением в ткани поллютантов, способных вызвать оксидативный стресс. Например, известно, что флавоноиды гасят супероксидный анион-радикал [6]. Кроме того, флавоноиды ингибируют действие ферментов, генерирующих АФК (циклооксигеназ, липоксигеназ и др.) [5]. Кроме того отметим, что флавоноиды способны сорбироваться на клеточных мембранах, тем самым создавая стерические затруднения для дальнейшего их окисления с участием ТМ [20]. Кроме того, синтез флавоноидов

может осуществляться с целью их участия в процессах фотосинтеза, дыхания и роста, также подавляемых в условиях загрязнения окружающей среды. Повышение концентрации флавоноидов может быть связано с гидролизом их гликозидной формы в связи с неблагоприятными условиями среды [6]. Накопление в растениях Cu, Mn, Fe в определенных дозах также может стимулировать жизнедеятельность растений, поскольку известно, что эти элементы входят в состав многих ферментов (супероксиддисмутазы, триптофанипироллазы, аргиназы и др.) из-за высокой окислительно-восстановительной подвижности [1]. Накопление флавоноидов в ответ на стрессовое воздействие среды является неспецифической реакцией растений и может быть использовано как часть комплексного биохимического мониторинга экологического неблагополучия.

В клетках мать-и-мачехи на всех исследуемых участках зарегистрировано увеличение содержания фенолов как минимум на 7% (ТМС) до 87% (УГМК2) (рис. 6). Повышение содержания фенольных соединений при действии антропогенных источников загрязнения может быть объяснено синтезом этих антиоксидантов для связывания свободных радикалов и блокирования процесса перекисного окисления.

Картина по содержанию фенольных соединений в клетках ромашки не столь однозначна как для других изученных видов (рис. 6). Содержание фенолов снижалось на 30–35% на участках УГМК, НПЗ и ТМС, в то время на участках АТО и УГМК было выше контрольного уровня на 37%. А для других растений (мятлика лугового мышиного горошка) обнаружено, что содержание растительных фенолов на участке АТО снижено в наименьшей степени, а на участке УГМК2 – в наибольшей. Результат, полученный для ромашки, может быть интерпретирован таким образом: в ответ на первичный стресс, вызванный действием поллютантов автотранспорта, растения синтезируют фенольные соединения для антиоксидантной функции и других нужд жизнедеятельности. Затем антропогенное давление и количество поллютантов возрастает, и количество фенольных соединений снижается, вероятно, из-за их расходования (участки УГМК, НПЗ, ТМС). Однако, когда действие токсикантов максимально, ромашка оказывается способна к вторичному синтезу фенольных соединений. По всей видимости, это говорит о важной роли фенольных антиоксидантов в адаптации ромашки к антропогенным условиям, а также о широких пределах устойчивости данного вида. Применение подобной интерпретации результатов к клеверу красному приводит к выводу о более низкой чувствительности этого растения: содержание фенолов не отличалось от контроля на участках АТО и УГМК2, но, вероятно, также о способности клевера синтезировать фенольные соединения в условиях возрастающего стресса.

Неоднозначный характер изменения содержания фенольных антиоксидантов может быть объяснен снижением содержания флавоногликозидов в клетках, однако в то же время повышением уровня оксибензойных кислот, как описано в работе [11]. Действие ТМ на системы фенольной и флавоноидной защиты, по всей видимости, неоднозначно: в работе [14] было обнаружено негативное действие Cd на содержание этих антиоксидантов, а в исследовании [13], наоборот, накопление Cd активировало синтез фенольных антиоксидантов.

В некоторых случаях зафиксирована положительная корреляция содержания металлов с уровнем фенольных соединений в клетках растений: Cu в клевере красном  $r = 0.77$ ; Mn в мятлике и мышином горошке  $r = 0.76, 0.56$ ; Fe в мать-и-мачехе  $r = 0.84$ . Полученный результат может быть связан как со стимулирующей жизнедеятельность дозами ТМ, так и их стрессующим воздействием и синтезом фенольных антиоксидантов для блокирования процессов перекисного окисления и хелатирования ионов металлов. Вторая версия, вероятно, более предпочтительна в случае высокого уровня аккумуляции Fe в мать-и-мачехе. Кроме того, обнаружен ряд положительных корреляций содержания металлов с количеством флавоноидов, родственных рутину, в растениях: для мышиного горошка эта корреляция была прослежена для Cu, Mn, Fe ( $r = 0.67; 0.85; 0.82$ ), для клевера красного корреляция с Cu ( $r = 0.54$ ), для мать-и-мачехи корреляция с Mn ( $r = 0.58$ ), для ромашки корреляция с Fe ( $r = 0.77$ ). Поскольку флавоноиды являются родственными по отношению к фенольным антиоксидантам соединениями, то механизмы появления этой корреляции, вероятно, схожи с описанными выше для фенолов. Родственность флавоноидов и фенолов также прослеживается в положительной корреляции между этими показателями для клевера и мать-и-мачехи ( $r = 0.78$  и  $0.54$  соответственно). Таким образом, корреляционный анализ показал, что биохимический стресс, вызванный накоплением ТМ в клетках растений, провоцирует их синтезировать фенолы и флавоноиды для повышения антиоксидантного статуса: чем выше концентрация ТМ (Cu, Mn, Fe), тем выше содержание фенолов и флавоноидов.

### Заключение

На основе полученных результатов можно сделать следующие выводы.

1. Аккумуляция ТМ растениями из различных районов г. Тюмени убывала в ряду Fe > Cu > Mn > Pb > Cd. Превышение содержания Fe по сравнению с контрольным значением достигало 15 раз, в то время как обнаружить Pb и Cd в пробах растений не удалось, их содержание приблизительно на уровне 0.2 мг/кг. В отдельных случаях содержание металлов в исследуемых районах ниже контрольных значений, что может быть связано с различной обогащенностью почв, антагонизмом транслокации металлов с другими факторами и развитием устойчивости растений на физиологическом, биохимическом и генетическом уровнях.

2. Накопление ТМ растениями из различных районов г. Тюмени является видоспецифичным, склонность к аккумуляции Cu убывала в ряду мышиный горошек > мятлик > ромашка > клевер красный > мать-и-мачеха, а по накоплению Fe получен ряд: мать-и-мачеха > ромашка > мышиный горошек > клевер красный > мятлик. Обнаружена исключительная способность мать-и-мачехи аккумулировать Fe и Mn.

3. Наиболее интенсивная аккумуляция всех металлов наблюдалась в районе металлургического завода, что указывает не только на выброс в окружающую среду Fe, Mn и Cu, но и на их доступность для растений.

4. Ответная реакция фенольной и флавоноидной систем защиты растений на действие ТМ была видоспецифичной, как сонаправленной: синтез фенолов, в пересчете на танин, и флавоноидов, родственных рутину, у мать-и-мачехи и снижение их содержания у красного клевера, мышиного горошка и овса посевного, так

и противоположно направленной: у мятлика и ромашки. Полученный результат объясняется различной устойчивостью и особенностями поведения растений в условиях стресса. В ряде случаев между содержанием Cu, Fe и Mn и уровнем фенолов и флавоноидов в клетках растений обнаружены высокие положительные корреляции, свидетельствующие о причине биохимического стресса растений.

### Литература

1. Каббата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. – М.: Мир, 1989. – 440 с.
2. Тутов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. – Петрозаводск: Карельский науч. центр РАН, 2014. – 194 с.
3. Hassanein R.A., Hashem H.A., El-Deep M.H., Shouman A. Soil contamination with heavy metals and its effect on growth, yield and physiological responses of vegetable crop plants (turnip and lettuce) // J. Stress Physiol. Biochem. – 2013. – V. 9, No 4. – P. 145–162.
4. Скугорева С.Г., Ашихмина Т.Я., Фокина А.И., Лялина Е.И. Химические основы токсического действия тяжелых металлов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. – 2016. – № 1. – С. 4–13.
5. Skorzynska-Polit E. Lipid peroxidation on plant cells, its physiological role and changes under heavy metal stress // Acta Soc. Bot. Pol. – 2007. – V. 76, No 1. – P. 49–54. – doi: 10.5586/asbp.2007.006.
6. Michalak A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress // Pol. J. Environ. Stud. – 2006. – V. 15, No 4. – P. 523–530.
7. Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. Flavonoids as important molecules of plant interaction with the environment // Molecules. – 2014. – V. 19, No 10. – P. 16240–16265. – doi: 10.3390/molecules191016240.
8. Высочина Г.И., Кукушкина Т.А., Коцунтий О.В., Загурская Ю.В., Баяндина И.И. Изучение флоры лесостепной зоны Западной Сибири как источника биологически активных соединений // Сиб. экол. журн. – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 273–284.
9. Рахманкулова З.Ф., Шуйская Е.В., Щербakov А.В., Федяев В.В., Биктимерова Г.Я., Хафизова Р.Р., Усманов И.Ю. Содержание пролина и флавоноидов в побегах галофитов, произрастающих на территории Южного Урала // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 1. – С. 79–88. – doi: 10.7868/S001533031501011X.
10. Великанова Н.А., Сливкин А.И., Гапонов С.П. Изучение накопления флавоноидов травой горца птичьего, собранного в разных с экологической точки зрения районах города Воронежа и его окрестностей // Вестн. Ворон. гос. ун-та. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2013. – № 1. – С. 181–185.
11. Карпова Е.А., Храмова Е.П. Состав и содержание фенольных соединений представителей рода *Spiraea* L. в условиях техногенного загрязнения г. Новосибирска // Сиб. экол. журн. – 2014. – Т. 21, № 2. – С. 283–293.
12. Kulbat K., Leszczynska J. Antioxidants as defensive shield in thyme (*Thymus vulgaris* L.) grown on the soil contaminated with heavy metals // Biotechnology and Food Science. – 2016. – V. 80, No 2. – P. 109–117.
13. Marquez-Garcia B., Angeles-Fernandez-Recamales M., Cordoba F. Effects of cadmium on phenolic composition and antioxidant activities of *Erica andevalensis* // J. Bot. – 2012. – V. 2012. – Art. 936950, P. 1–6. – doi: 10.1155/2012/936950.
14. Lachman J., Dudjak J., Miholova D., Koliňova D., Pivec V. Effect of cadmium on flavonoid content in young barley (*Hordeum sativum* L.) plants // Plant, Soil Environ. – 2005. – V. 51, No 11. – P. 513–516. – doi: 10.17221/3625-pse.
15. Методика определения содержания тяжелых металлов в золе растений. – М.: Высш. шк., 1990. – 32 с.

16. Общая фармакопейная статья 1.5.3.0008.15. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. – М., 2015. – 4 с.
17. *Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И.* Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
18. *Копылова Л.В.* Аккумуляция железа и марганца в листьях древесных растений в техногенных районах Забайкальского края // Изв. Сам. науч. центра РАН. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 709–712.
19. *Воскресенская О.Л., Воскресенский В.С., Алябышева Е.А.* Накопление тяжелых металлов почвой и растениями в местах сбора и временного хранения твердых бытовых отходов // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 2. – С. 1–8. – URL: <https://www.science-education.ru/pdf/2013/2/112.pdf>.
20. *Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V.* Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review // *Ann. Bot.* – 2002. – V. 91, No 2. – P. 179–194. – doi: 10.1093/aob/mcf118.

Поступила в редакцию  
18.10.18

---

**Петухов Александр Сергеевич**, студент Института химии

Тюменский государственный университет  
ул. Володарского, д. 6, г. Тюмень, 420008, Россия  
E-mail: [revo251@mail.ru](mailto:revo251@mail.ru)

**Хритохин Николай Александрович**, кандидат химических наук, профессор кафедры неорганической и физической химии

Тюменский государственный университет  
ул. Володарского, д. 6, г. Тюмень, 420008, Россия  
E-mail: [kna@utmn.ru](mailto:kna@utmn.ru)

**Петухова Галина Александровна**, доктор биологических наук, профессор кафедры экологии и генетики

Тюменский государственный университет  
ул. Володарского, д. 6, г. Тюмень, 420008, Россия  
E-mail: [gpetuhova1@mail.ru](mailto:gpetuhova1@mail.ru)

**Кремлева Татьяна Анатольевна**, доктор химических наук, профессор кафедры органической и экологической химии

Тюменский государственный университет  
ул. Володарского, д. 6, г. Тюмень, 420008, Россия  
E-mail: [kreml-ta@yandex.ru](mailto:kreml-ta@yandex.ru)

doi: 10.26907/2542-064X.2019.1.93-107

**Phenolic Plant Defense System under Conditions of Environment Pollution  
by Heavy Metals in Tyumen**A.S. Petukhov<sup>\*</sup>, N.A. Khritokhin<sup>\*\*</sup>, G.A. Petukhova<sup>\*\*\*</sup>, T.A. Kremleva<sup>\*\*\*\*</sup>

University of Tyumen, Tyumen, 625003 Russia

E-mail: <sup>\*</sup>revo251@mail.ru, <sup>\*\*</sup>kna@utmn.ru, <sup>\*\*\*</sup>gpetuhova1@mail.ru, <sup>\*\*\*\*</sup>kreml-ta@yandex.ru

Received October 18, 2018

**Abstract**

The mechanisms of plant persistence to the heavy metals effect, including the change in flavonoids and phenolic antioxidants status, is of great importance. The aim of this research is to investigate the impact of heavy metal (Cu, Fe, Mn, Pb, and Cd) accumulation in herbs of various species in Tyumen on the content of phenols and flavonoids.

The material has been collected near various industrial facilities of Tyumen: metallurgical, engine-building, oil refinery, and battery. The studied sites also include the highway area. The following species of plants have been sampled: coltsfoot (*Tussilago farfara*), meadow grass (*Poa pratensis*), red clover (*Trifolium rubens*), chamomile (*Matricaria chamomilla*), and wild vetch (*Vicia cracca*). The analysis of heavy metal concentrations in plants has been performed by atomic absorption spectrophotometry. The concentration of phenols in plants has been determined by titration, while the analysis for flavonoids has been carried out photometrically.

The species-specific accumulation of heavy metals has been observed. It has been found that the highest content of Mn is accumulated by coltsfoot. In general, the accumulation of heavy metals decreases in the following order: Fe > Cu > Mn > Pb > Cd. The highest concentrations of heavy metals were registered near the metallurgical plant. The change in the status of phenols and flavonoids has also turned out to be species-specific. In the cells of coltsfoot, the content of phenols and flavonoids is higher than in the control plants almost in all test groups. At the same time, the concentration of antioxidants in red clover decreases. The high correlation coefficients have been registered for the Cu, Fe, and Mn concentration and the content of phenols and flavonoids, which proves the impact of heavy metals on the antioxidant defense system of plants under conditions of the urban environment.

**Keywords:** heavy metals, phenols, flavonoids, antioxidants, plants, urban environment

**Figure Captions**

Fig. 1. Cu content in plants from various technogenic areas of Tyumen.

Fig. 2. Fe content in plants from various technogenic areas of Tyumen.

Fig. 3. Mn content in plants from various technogenic areas of Tyumen.

Fig. 4. Pb content in plants from various technogenic areas of Tyumen.

Fig. 5. Cd content in plants from various technogenic areas of Tyumen.

Fig. 6. The content of phenolic antioxidants in plants from various technogenic areas of Tyumen. An asterisk marks the statistically significant ( $p \leq 0.05$ ) differences between the control site and the polluted area.

Fig. 7. The content of flavonoids in plants from various technogenic areas of Tyumen. An asterisk marks the statistically significant ( $p \leq 0.05$ ) differences between the control site and the polluted area.

**References**

1. Kabbata-Pendias A, Pendias H. *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Press Inc., 1984. 315 p.
2. Titov A.F., Kaznina N.M., Talanova V.V. *Tyazhelye metally i rasteniya* [Heavy Metals and Plants]. Petrozavodsk, Karel. Nauchn. Tsentr Ross. Akad. Nauk, 2014. 194 p. (In Russian)

3. Hassanein R.A., Hashem H.A., El-Deep M.H., Shouman A. Soil contamination with heavy metals and its effect on growth, yield and physiological responses of vegetable crop plants (turnip and lettuce). *J. Stress Physiol. Biochem.*, 2013, vol. 9, no. 4, pp. 145–162.
4. Skugoreva S.G., Ashikhmina T.Ya., Fokina A.I., Lyalina E.I. Chemical grounds of toxic effect of heavy metals (A review). *Teor. Prikl. Ekol.*, 2016, no. 1, pp. 1–10. (In Russian)
5. Skorzynska-Polit E. Lipid peroxidation on plant cells, its physiological role and changes under heavy metal stress. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 2007, no. 76, no. 1, pp. 49–54. doi: 10.5586/asbp.2007.006.
6. Michalak A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2006, vol. 15, no. 4, pp. 523–530.
7. Mierziak J, Kostyn K, Kulma A. Flavonoids as important molecules of plant interaction with the environment. *Molecules*, 2014, vol. 19, no. 10, pp. 16240–16265. doi: 10.3390/molecules191016240.
8. Vysochina G.I., Kukushkina T.A., Kotsupii O.V., Zagurskaya Yu.V., Bayandina I.I. Flora of the forest-steppe zone of West Siberia as a source of biologically active compounds. *Contemp. Probl. Ecol.*, 2011, vol. 4, no. 2, pp. 202–211. doi: 10.1134/S1995425511020123.
9. Rakhmankulova Z.F., Shuyskaya E.V., Shcherbakov A.V., Fedyayev V.V., Biktimerova G.Ya., Khafisova R.R., Usmanov I.Yu. Content of proline and flavonoids in the shoots of halophytes inhabiting the South Urals. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2015, vol. 62, no. 1, pp. 71–79. doi: 10.1134/S1021443715010112.
10. Velikanova N.A., Slivkin A.I., Gaponov S.P. Investigation of flavonoids accumulation by knot-grass collected from ecologically different areas of Voronezh and its outskirts. *Vestn. Voronezh. Gos. Univ. Ser.: Khim. Biol. Farm.*, 2013, no. 1, pp. 181–185. (In Russian)
11. Karpova E.A., Khranova E.P. Phenolic composition and content of representatives of the genus *Spiraea* L. under the conditions of industrial pollution in Novosibirsk. *Contemp. Probl. Ecol.*, 2014, vol. 7, no. 2, pp. 228–236. doi: 10.1134/S1995425514020073.
12. Kulbat K., Leszczynska J. Antioxidants as defensive shield in thyme (*Thymus vulgaris* L.) grown on the soil contaminated with heavy metals. *Biotechnol. Food Sci.*, 2016, vol. 80, no. 2, pp. 109–117.
13. Marquez-Garcia B., Angeles-Fernandez-Recamales M., Cordoba F. Effects of cadmium on phenolic composition and antioxidant activities of *Erica andevalensis*. *J. Bot.*, 2012, vol. 2012, art. 936950, pp. 1–6. doi: 10.1155/2012/936950.
14. Lachman J., Dudjak J., Miholova D., Kolihovala D., Pivec V. Effect of cadmium on flavonoid content in young barley (*Hordeum sativum* L.) plants. *Plant, Soil Environ.*, 2005, vol. 51, no. 11, pp. 513–516. doi: 10.17221/3625-pse.
15. *Metodika opredeleniya sodrzhaniya tyazhelykh metallov v zole rastenii* [Method for Heavy Metal Content Determination in Plant Ashes]. Moscow, Vyssh. Shk., 1990. 32 p. (In Russian)
16. General Pharmacopoeial Standard 1.5.3.0008.15. Determination of tannins in medicinal herbal raw materials and herbal medicine. Moscow, 2015, 4 p. (In Russian)
17. Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P., Peruanskii Yu.V., Lukovnikova G.A., Ikonnikova M.I. *Metody biokhimeskogo issledovaniya rastenii* [Methods for Biochemical Study of Plants]. Leningrad, Agropromizdat, 1987, 430 p. (In Russian)
18. Kopylova L.V. Accumulation of Fe and Mn in the leaves of arboreous plants from technogenic areas of the Trans-Baikal region. *Izv. Samar. Nauchn. Tsentra Ross. Akad. Nauk*, 2010, vol. 12, no. 1, pp. 709–712. (In Russian)
19. Voskresenskaya O.L., Voskresenskii V.S., Alyabysheva E.A. Heavy metal accumulation by soil and plants in the locations of gathering and temporary storage of solid waste. *Sovrem. Probl. Obraz.*, 2013, no. 2, pp. 1–8. Available at: <https://www.science-education.ru/pdf/2013/2/112.pdf>. (In Russian)
20. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Ann. Bot.*, 2002, vol. 91, no. 2, pp. 179–194. doi: 10.1093/aob/mcf118.

**Для цитирования:** Петухов А.С., Хритохин Н.А., Петухова Г.А., Кремлева Т.А. Фенольная система защиты растений в условиях загрязнения среды г. Тюмени тяжелыми металлами // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2019. – Т. 161, кн. 1. – С. 93–107. – doi: 10.26907/2542-064X.2019.1.93-107.

**For citation:** Petukhov A.S., Khrutokhin N.A., Petukhova G.A., Kremleva T.A. Phenolic plant defense system under conditions of environment pollution by heavy metals in Tyumen. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*, 2019, vol. 161, no. 1, pp. 93–107. doi: 10.26907/2542-064X.2019.1.93-107. (In Russian)