

ВЛИЯНИЕ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В РАСТЕНИЯХ СЕМЕЙСТВА НОРИЧНИКОВЫХ СТЕПНОГО ПРЕДУРАЛЬЯ

Содержание биологически активных веществ в растениях зависит от физико-химических характеристик среды обитания – экологических факторов. Особое место среди веществ вторичного синтеза занимают флавоноиды, предположительно повышающие толерантность растений к неблагоприятным условиям среды. Изучение растений семейства норичниковых (вероника колосистая *Veronica spicata* L., льнянка обыкновенная *Linaria vulgaris* L. и марьянник полевой *Melampyrum pratense* L.), собранных в степном Оренбуржье в зоне влияния промышленных выбросов Оренбургского газоперерабатывающего завода, позволило установить, что содержание суммы флавоноидов в биомассе растений, произрастающих в зоне действия атмосферных выбросов ОГПЗ, превышает количество флавоноидов в биомассе растений контрольных участков. Отмеченный факт свидетельствует об изменении хода метаболических процессов и фитохимического состава растений, вынужденных адаптироваться к загрязненной промышленными выбросами газовой среде.

Растения в процессе роста и развития накапливают вещества первичного и вторичного синтеза. Вещества первичного синтеза – белки, углеводы и липиды – образуются в процессе фотосинтеза и выполняют в основном функции запасных и структурных соединений.

Из литературных источников известно (Благовещенский, 1966; Gollmick, Neubert, 1970; Ноздрюхина, Гринкевич, 1980; Ильин, 1989; Олешко и др., 1997; Трембаля, 1997;), что процессы метаболизма в растениях зависят в значительной мере от наличия в них веществ вторичного синтеза и микроэлементов. Компоненты вторичного синтеза – флавоноиды, алкалоиды, фитонциды, эфирные масла, таниды, гликозиды, сапонины, ферменты, кумарины, органические минеральные кислоты, горечи, иридоиды и многие другие соединения, принимающие активное участие в процессах метаболизма растений, принято называть биологически активными веществами (БАВ). Биологически активные (действующие) вещества присутствуют во всех органах высших растений. Их содержание в растениях зависит от фазы развития, географической зоны и физико-химических характеристик среды обитания – экологических факторов.

Нами проведено исследование растений, собранных в степном Оренбуржье в зоне влияния промышленных выбросов Оренбургского газоперерабатывающего завода. В задачи исследования входило изучить влияние промышленных поллютантов на накопление биологически активных веществ – флавоноидов и фенолкарбоновых кислот. Сравнительный фитохимический анализ растительности, произрас-

тающей на техногенно загрязненных участках, имеет большое значение в плане изучения механизмов адаптации растений к негативному воздействию загрязненной среды. Поэтому фитохимические исследования – необходимая составная часть исследований биологических ресурсов степного Предуралья. Изучение веществ первичного синтеза в растениях, произрастающих вблизи Оренбургского газоперерабатывающего завода, проводилось ранее некоторыми исследователями (Рябинина, 1993). При этом была выявлена некоторая зависимость содержания веществ первичного синтеза в растениях от фазы развития и экологических условий. Изучения влияния промышленных выбросов Оренбургского газоперерабатывающего завода ООО «Оренбурггазпром» на общий габитус растений и накопление в них биологически активных веществ ранее не проводилось.

Исследования проводились на территории газоперерабатывающего комплекса и в его окрестностях. Для этого были взяты широко распространенные растения семейства норичниковых: вероника колосистая *Veronica spicata* L., льнянка обыкновенная *Linaria vulgaris* L. и марьянник полевой *Melampyrum pratense* L. Анализы проводились на содержание веществ флавоноидов и фенолкарбоновых (оксикоричных) кислот.

Флавоноиды являются наиболее обширной группой фенольных соединений и важной составной частью растительного организма. Среди веществ вторичного синтеза флавоноиды занимают особое место. Они принимают активное участие в окислительно-восстановительных процессах в растениях, являются необходимы-

ми компонентами дыхательной пероксидазной системы растений, играют роль поглотителей ультрафиолетовых лучей, предохраняя тем самым хлорофилл и плазму (Благовещенский, 1966; Георгиевский и др., 1989; Кенжебаева и др., 1998).

Значительная пластичность флавоноидов в растениях, отмечаемая в большинстве исследований экологического характера, чаще всего связана со сменой климатических зон или широтным распределением по планете (Благовещенский, 1966). Однако особенности качественного состава флавоноидов и содержания отдельных компонентов в растениях одного и того же вида, собранных в различных местообитаниях в пределах небольших географических регионов, исследовались недостаточно.

Полагают, что флавоноиды являются неотъемлемой частью высших растений и участвуют в важных процессах обмена веществ. Ряд авторов выдвигает предположения о том, что флавоновые соединения повышают толерантность растений к неблагоприятным условиям среды (Георгиевский и др., 1989; Олешко и др., 1997; Храмова, 1998). Известно, что в нетипичных для вида местообитаниях его флавоноидный комплекс, отражая специфический тип вторичного обмена, существенно меняется и не совпадает с аналогичными профилями, характерными для вида в данном регионе (Олешко и др., 1997).

Проводимое нами исследование особенностей флавоноидного комплекса вышеуказанных растений, произрастающих в природных популяциях Оренбургского района, включало характеристику местообитаний по ряду признаков, геоботаническое описание, анатомо-морфологические особенности данных видов. Кроме того, в задачи исследования входило изучение флавоноидного комплекса для анализа эколого-ценотического ряда сообществ, произрастающих на территории газоперерабатывающего комплекса, санитарно-защитной зоны ОГПЗ и в контрольных участках.

Воздушно-сухое и измельченное сырье обрабатывали хлороформом для удаления сопутствующих веществ (смолы, хлорофилл, воск и другие примеси), мешающих анализу, и высушивали. Экстракцию флавоноидов проводили в трехкратной повторности этанолом 96%, 60% и 30%.

Определение наличия индивидуальных флавоноидов и их количества в растениях, произрастающих в зоне влияния выбросов ОГПЗ (на территории завода и на границе санитарно-защитной зоны) и на контрольной территории, проводили методом двумерной хроматографии на бумаге.

Хроматографирование проводили в системе 1 – н-бутанол – уксусная кислота – вода в соотношении 4 : 1 : 5 (БУВ 415), а затем в системе 2 – уксусная кислота – вода (15 : 85). Хроматограммы высушивали и просматривали в УФ-свете и парах аммиака, обводя простым карандашом контуры пятен и отмечая их окраску. Сплошной линией обводили пятна видимые в УФ-свете, а пятна, появившиеся после проявления, обводили прерывистой линией.

Затем хроматограммы проявляли хромогенными реактивами, в частности 1% спиртовым раствором хлорида алюминия, являющимся классическим проявителем при определении флавоноидов и фенолкарбоновых кислот (Краснов и др., 1987). После проявления хроматограммы снова просматривали в УФ-свете, отмечая флуоресценцию пятен. Пятна, характерные для флавоноидов, отмечали сетчатой штриховкой, а для фенолкарбоновых кислот – линейной.

Количественное определение флавоноидов в сырье проводилось фотоколориметрическим методом на КФК-56П. Колориметрирование проводили с использованием комплексообразующих (раствор хлорида алюминия) и ионизирующих реактивов (раствор ацетата натрия), являющимися высокочувствительными при определении флавоноидов в растениях, в кюветках с толщиной слоя 0,75 мм и длиной волны 400 нм. Расчет количества флавоноидов проводили по калибровочному графику, построенному по цинарозиду (табл. 1).

В результате реакции наблюдали окрашивание извлечений от слабо желтого до ярко желтого, характерного для флавоноидов группы флавона. Установлено, что все изучаемые нами растения содержат флавоноиды группы флавона в значительных количествах. Наибольшее содержание флавоноидов обнаружено в траве вероники колосистой.

Изучение хроматограмм позволило установить, что качественный состав флавоноидов в изучаемых нами растениях, произрастающих в

зонах с различной техногенной нагрузкой, имеет отличия. Изменение концентрации (размеры пятен, интенсивность их флуоресценции на хроматограммах) и качественного состава флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, видимо, является следствием воздействия на организмы растений атмосферного воздуха, содержащего фитотоксичные примеси в незначительных концентрациях (не превышающих ПДК). ИЗА в исследуемых точках можно охарактеризовать как низкий. Тем не менее газовая среда отличается от фоновой, что влечет за собой ряд изменений фитохимического состава растительного сырья.

В результате исследования в траве вероники колосистой, произрастающей в условиях промышленного воздействия, нами обнаружено от 4-х (район администрации завода и окрестности установок первой очереди) и до 6-ти флавоноидов (пос. Холодные Ключи). Кроме того, на хроматограммах экземпляров растений, собранных на административной территории завода, было обнаружено 7 пятен, принадлежащих фенолкарбоновым (полифенольным) кислотам. Количество фенолкарбоновых кислот у вероники колосистой контрольной зоны равно восьми, из них одно вещество обнаруживает себя только после проявления в парах аммиака. На территории санитарной зоны выявлено 6 фенолкарбоновых кислот. Максимальное количество фенолкарбоновых кислот отмечено в растениях, произрастающих на территории предприятия в промышленной зоне – 9 веществ.

Исследования травы льнянки обыкновенной, произрастающей в условиях промышленного воздействия (в окрестностях завода и санитарно-защитной зоне), на наличие флавоноидов и фенолкарбоновых кислот показали наличие не менее 8 флавоновых веществ. Хроматограммы экземпляров растений, собранных в промышленной зоне и в окрестностях административного корпуса, выявили также 3 пятна, принадлежащих фенолкарбоновым кислотам. В растениях контрольных участков анализ выявил 8 флавоноидов и 2 фенолкарбоновые кислоты. В санитарно-защитной зоне (пос. Холодные Ключи) количество флавоноидов равно 8, что не превышает контрольные показатели. Число фенолкарбоновых равно 4, что превышает контрольные показатели и показатели льнянки обыкновенной в окрестностях завода.

Трава марьянника полевого, собранная в промышленной зоне, обнаруживает на двумерной хроматограмме не менее 6 (в зоне влияния установок первой очереди завода) и 8 (возле административного корпуса завода) флавоноидов. Соответственно 4 и 6 веществ обнаруживают себя до проявления раствором хлорида алюминия по темной и темно-коричневой окраске в УФ-свете. У двух веществ пятна видны лишь после проявления хроматограммы, что свидетельствует о незначительном их количестве в исследуемом растении. В зоне влияния установок первой очереди обнаружено 2 пятна, принадлежащих фенолкарбоновым кислотам. На хроматограммах растений контрольной зоны выявлено 2 пятна, принадлежащих фенолкарбоновым кислотам, которые обнаруживаются лишь после проявления в парах аммиака.

Из приведенных данных видно, что спектр содержания веществ вторичного синтеза меняется у растений, произрастающих в условиях атмосферного загрязнения, в зоне влияния выбросов крупного газоперерабатывающего предприятия. Все исследуемые нами виды, за исключением льнянки обыкновенной, собранные в техногенной зоне, вырабатывают больше флавоноидов, чем растения, собранные вдали от газоперерабатывающего предприятия, и в условиях повышенного техногенного воздействия показали увеличение спектра вырабатываемых фенолкарбоновых кислот. Что связано, по всей вероятности, с необходимостью выработки адаптационных систем к изменению газовой среды.

Наибольшее количество флавоноидов обнаружено в траве, произрастающей в окрестностях ОГПЗ (на территории завода и в санитарно-защитной зоне). Следовательно, можно предположить, что содержание и накопление флавоноидов зависит от наличия и концентрации техногенных примесей в атмосфере. Повышенная выработка и накопление флавоноидов и фенолкарбоновых кислот являются следствием ответной реакции организмов растений на наличие в атмосфере примесей – выбросов ОГПЗ.

В ходе исследования установлено, что растения каждого вида, собранные в различных экологических условиях, отличаются уровнем содержания флавоноидов. Наибольшее количество общей суммы флавоноидов отмечено у

растений, произрастающих в загрязненной атмосфере (в районе промышленных установок 1-й очереди, возле поселка Холодные Ключи). Меньшее количество флавоноидов отмечается в траве растений, произрастающих в контрольной зоне, вдали от действующих промышленных предприятий и автодорог.

Наименьшее различие в количестве флавоноидов отмечается у льнянки обыкновенной (6% и 5% в санитарной зоне, в районе промышленных площадок – 10% и 11%). Наибольшие отличия в количественном содержании флавоноидов наблюдались у марьянника полевого: 35% (ОГПЗ, 1998 г.), 41% (Холодные Ключи, 1998 г.), 64% (Холодные Ключи, 1999 г.). Различия по показателю у растений вероники колосистой составило в районе установок первой очереди – 12% и 16% (1998-99 гг.). В поселке Холодные Ключи контрольные показатели превышали всего на 4%.

Содержание суммы флавоноидов в биомассе растений, произрастающих в зоне действия атмосферных выбросов ОГПЗ, превышает ко-

Таблица 1. Сводные данные по содержанию флавоноидов в травянистых растениях (мг % сухого сырья)

Вид растения	1998 г.			1999 г.		
	ОГПЗ	Сан. зона	Контроль	ОГПЗ	Сан. зона	Контроль
<i>Linaria vulgaris</i>	2,89±0,07	3,00±0,09	2,73±0,09	2,94±0,07	3,07±0,08	2,78±0,07
<i>Melampyrum pratense</i>	1,66±0,07	1,74±0,09	1,23±0,05	–	1,60±0,05	0,97±0,04
<i>Veronica spicata</i>	6,62±0,09	6,16±0,09	5,91±0,07	6,77±0,09	–	5,80±0,08

личество флавоноидов в биомассе растений контрольных участков (табл. 1). Отмеченный факт свидетельствует об изменении хода метаболических процессов и фитохимического состава растений, вынужденных адаптироваться к загрязненной промышленными выбросами газовой среде. Повышение уровня содержания и концентрации флавоноидов в надземной фитомассе растений может использоваться в качестве диагностического признака, свидетельствующего о наличии антропогенного прессинга (атмосферного промышленного загрязнения) на организмы растений.

Список использованной литературы:

1. Благовещенский А.В. Биохимическая эволюция цветковых растений. М.: Наука, 1966. 327 с.
2. Воин М.И. Возможности снижения экологической опасности экотоксикантов в сельском хозяйстве // Химия в сельском хозяйстве. – 1995. - № 5. – С. 38-40.
3. Георгиевский В.П., Рыбаченко А.И. и др. Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений // Северо-Кавказский научный центр высшей школы. – Ростов на/Д.: Изд. Ростовск. ун-та, 1988. – 143 с.
4. Гончарик М.Н. Влияние экологических условий на физиологию культурных растений. Минск: Изд. АН БССР, 1962.
5. Ильин В.Б. Элементарный химический состав растений. – Новосибирск: Наука, 1985. – 129 с.
6. Кенжебаева С.Т., Кульмагамбетова Э.А., Прибыткова Л.Н., Адекенов С.М. Флавоноиды *Achillea glabella* Kar. Et Kir. // Физиолого-биохимические аспекты изучения лекарственных растений / Мат-лы междунар. совещ., посв-о памяти Минаевой В.Г. Новосибирск, 1998. С. 56.
7. Ноздрюхина Л.Р., Гринкевич Н.И. Нарушение микроэлементного обмена и пути его коррекции. М.: «Наука», 1980. - 280 с.
8. Олешко Г.И., Зеленина М.В., Вогинова Т.И., Марценюк В.Б., Елабугина О.В., Челпанова Е.В. Влияние условий обитания на накопление флавоноидов некоторыми видами рода вероника и брусника региона Урала // Мат. юбилейной науч-практ. конференции, посв. 60-летию Пермской государственной фармацевтической академии. Пермь: ПГФА, 1997. - С. 15-16.
9. Просовский М.А. Фармакологическое изучение ромашки душистой. Автореф. дис. канд. фарм. наук. Пермь, 1986.
10. Рябинина З.Н., Семенова Н.В., Пушкарева Е.В. Влияние выбросов ОГПЗ на культурные и дикорастущие растения // Оренбургская область: Мат-лы науч.-метод. конференции. Оренбург, 1993. - С. 25.
11. Трембала Я.С. Влияние микроудобрений на сезонный ритм развития тысячелистника обыкновенного в условиях культуры // Сб. науч. тр., Курский гос. мед. ун-т. - Курск, 1997. – С. 172-174.
12. Gollmick F., Neubert P., Vielemeyer H.P. Moglichkeiten und Grenzen der Pflanzenanalyse bei der Ermittlung des Mineralstoffbedarfs landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. – Fortschrittsberichte fur die Landwirtschaft und Nahrungsguterwirtschaft, 1970, Bd. 8, H. 4 - S. 5-83.