

УДК 641.522.8; 504.75

ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНАХ *VACCINIUM MYRTILLUS* L. В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Лидия Николаевна Середа¹, Владимир Константинович Жиров²,
Светлана Витальевна Дрогобужская³

¹ Центр наноматериаловедения Федеральный Исследовательский
Центр «Кольский Научный Центр» РАН,
184209, г. Апатиты ул. Ферсмана, д.14

² Центр медико-биологических проблем адаптации человека в Арктике
Федеральный Исследовательский Центр «Кольский Научный Центр» РАН,
184209, г. Апатиты ул. Ферсмана, д.14

³ Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья
им. И.В. Тананаева Федеральный
Исследовательский Центр «Кольский Научный Центр» РАН,
184209, г. Апатиты ул. Ферсмана, д.26а
E-mail: sundukpandory87@mail.ru

Изучение закономерностей усиленного синтеза вторичных метаболитов растениями, непрерывно подвергающихся техногенному воздействию, является одной из актуальных задач. Нарушения структурной организации биоценозов способны привести к полной деградации растительности на значительных территориях. Одним из источника техногенной нагрузки на Кольском полуострове, является медно-никелевый комбинат ОАО «Комбинат Североникель» (АО «Кольская ГМК»), расположенный в центральной промышленной части полуострова, выбросы которого содержат высокие концентрации тяжелых металлов. Одним из доминантных видов травяно-кустарничкового яруса, является черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L.) – листопадный кустарничек семейства вересковые (*Ericaceae* Juss.), листья которой синтезируют флавоноиды, полифенольные кислоты, стилбены, обуславливающие значительные гипогликемическую, противовоспалительную, общеукрепляющую активности. Целью настоящей работы, является изучение изменчивости содержания флавоноидных соединений в вегетативных органах *Vaccinium myrtillus* L., произрастающей в условиях техногенного загрязнения на территории Арктической зоны РФ. В результате проведения работы, проанализирована зависимость синтеза флавоноидов и антиоксидантов от расстояния до источника техногенного загрязнения. Отмечен общий нелинейный характер пространственного распределения в отношении суммы флавоноидов и общей антиоксидантной активности. Установлена нелинейная тенденция накопления тяжелых металлов.

Ключевые слова: *Vaccinium myrtillus* L.; биологически активные вещества; техногенное загрязнение; ультразвуковая экстракция; Арктика

Введение

Одной из актуальных задач современности, является изучение закономерностей усиленного синтеза вторичных метаболитов дикорастущими растениями, непрерывно подвергающимися техногенному воздействию. Постоянно увеличивающиеся объёмы промышленных выбросов провоцируют угнетение, как отдельных популяций растений, так и биогеоценозов. Подобные нарушения структурной организации способны привести к полной деградации растительности на значительных территориях [1].

В условиях Кольского полуострова, характеризующегося неблагоприятными климатическими условиями, важным фактором усиленных ответных адаптогенных реакций растений, является техногенная нагрузка, осуществляемая медно-никелевым комбинатом ОАО «Комбинат Североникель» (АО «Кольская ГМК»), расположенном в центральной промышленной части полуострова, выбросы которого содержат высокие

концентрации тяжелых металлов [2, 3], трансформирующие естественный геохимический фон и приводящие к деградацией растительного покрова.

Одним из доминантных видов травяно-кустарничкового яруса, играющего важную роль в продуцировании органического вещества, медленно накапливающегося в бореальной экосистеме, является черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L.) – листопадный кустарничек семейства вересковые (*Ericaceae* Juss.). Спелые плоды растений черники, являются востребованным источником питания местного населения [4], содержат значительное количество антоцианов, витаминов, сахаров, и наряду с листьями синтезируют флавоноиды, полифенольные кислоты, стилбены, обуславливающие значительную гипогликемические, противовоспалительные, общеукрепляющие и другие фармацевтически значимые для человека свойства [5].

Важную роль в защите растений от стрессовых воздействий играют флавоноиды. Известно, что в ответ на стресс, представители семейства вересковых, способны синтезировать их в значительных количествах, что можно рассматривать, как один из механизмов их адаптации к техногенному воздействию, а изменение их содержания использовать в качестве биомониторинга состояния окружающей среды [6].

Несмотря на продолжительную работу медно-никелевого комбината, исследований по накоплению фенольных соединений растениями в Мончегорском районе практически не проводилось. Таким образом, целью настоящей работы, является изучение вариабельности содержания адаптогенных соединений в вегетативных органах *Vaccinium myrtillus* L. в зависимости от величины техногенного загрязнения.

Материалы и методы

Объектами исследования служили листья черники обыкновенной, собранные во II декаду июля 2021 г. в фазу полного формирования листьев (ВВСН 12). Регистрация фенологических фаз производилась по методике [7], с последующим переводом в международную шкалу ВВСН [8].

Сбор растительного материала производился на семи пробных площадках в градиенте техногенного воздействия ОАО «Комбинат Североникель» (ОАО «Кольская ГМК»), расположенных в Мончегорском районе Мурманской области на 1231, 1236, 1241, 1246, 1251, 1256 и 1261 км автотрассы Санкт-Петербург – Мурманск, соответственно (рис. 1).

Растительный материал, высушенный методом воздушно-теневого сушки, подвергался измельчению, а затем ситованию с использованием сита с отверстиями диаметром 1 мм, в соответствии с [9].

Экстрагирование проводилось методом ультразвуковой экстракции в предварительно термостатированной до 45°C ультразвуковой ванне VBS-3DP (Вилитек, Россия) водно-спиртовой смесью с содержанием 60 об. % этанола при отношении массы растительного материала к объёму экстрагента 1:10 в течение 60 мин, с последующим центрифугированием экстрактов в течение 5 мин при 4000 об./мин в лабораторной центрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия).

Общее содержание флавоноидов (total flavonoid content (TFC)) определялось по реакции комплексообразования с хлоридом алюминия, для чего к 1 мл 2% раствора хлорида алюминия добавляли 1 мл разбавленного в 20 раз экстракта, общую антиоксидантную активность (total antioxidant capacity (TAC)) определялась фосфомолибдатным методом с образованием молибденовых синей, для чего к 2 мл реакционного раствора (4 mM молибдата аммония + 28 mM дигидрофосфата калия + 0.6 M серная кислота) добавляли 0.005 мл нативного экстракта, в соответствии с [3].

Полученные смеси термостатировали при 25°C в течение 60 минут и 95°C в течение 90 минут, соответственно. Содержание исследуемых компонентов выражали в мг эквивалента рутина (rutin equivalent (RE) и аскорбиновой кислоты (ascorbic acid equivalent (AAE) на 1 г сухого растительного материала. Оптическая плотность растворов измерялась на фотоколориметре КФК-3-01 (ЗОМЗ, Россия) при длине волны 420 и 805 нм, соответственно.

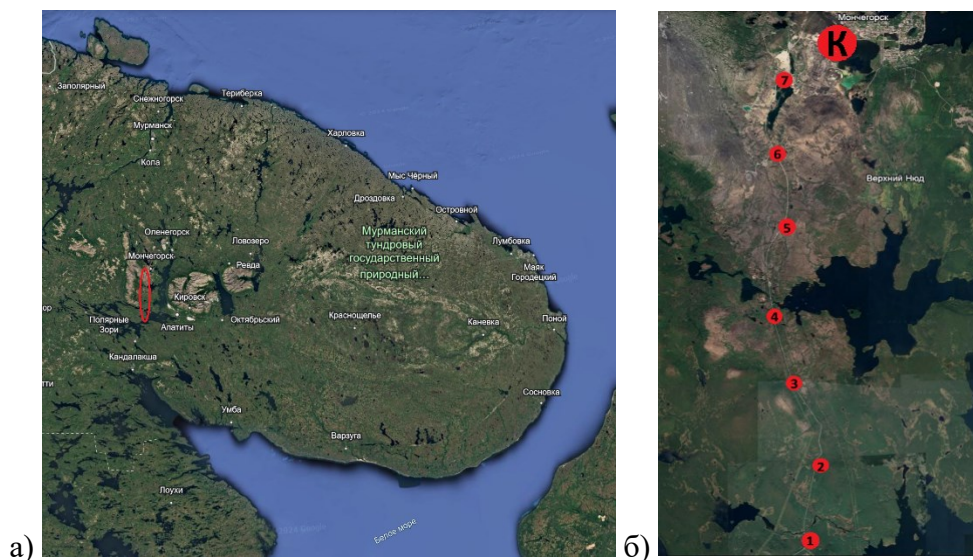


Рис. 1 Расположение стационарных площадок (1-7) (а, б) в зоне воздействия ОАО «Комбинат Североникель» (К).

Грунт для анализа содержания тяжелых металлов отбирался в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-2017 [8]. Точечные пробы, содержащие типичные для генетических горизонтов почвы, отбирались почвенным буром на каждой пробной площадке методом конверта, затем объединялись путем смешивания. Перед отправкой на анализ пробы подвергались растиранию в ступке из агата до пудрообразного состояния.

Элементный состав грунта определялся методом автоклавного микроволнового вскрытия в системе MW 4 (Berghof, Германия) в соответствии с [10]. Образцы подвергались автоклавному разложению в автоклавах DAK-100 (Daihan Scientific, Южная Корея) предварительно перегнанными на установке Berghof (Berghof, Германия) азотной и соляной кислотами, а также фтороводородом, с варьированием состава в 2-х циклах по 90 мин каждый, с последующим переводом в полипропиленовые пробирки вместимостью 100 мл и доведением до метки 2% азотной кислотой.

Измерения проводили на масс-спектрометре с индуктивно связанной плазмой ELAN 9000 DRC-e (Perkin Elmer, США). Настройка прибора производилась при помощи стандартного образца Multi-element ICP-MS Calibration Standard STD 1 (Perkin Elmer, США), градуировка – стандартными растворами ICP-MS Calibration Standard IV-STOCK-21, IV-STOCK-28 (Inorganic Ventures, США) с массовой концентрацией определяемых элементов 10 мг/л и погрешностью, не превышающей 0,5% при $p = 0,95$ (табл. 1). Проверка правильности измерений осуществлялась с помощью стандартных образцов: CRM-SOIL-A (High-purity standards, USA), ГСО СП-2 (ГСО № 902-76, Россия), СП-3 (ГСО № 903-76, Россия), БИЛ-1 (ГСО № 7126-84, Россия).

Таблица 1

Элементный состав градуировочных растворов

Стандартный раствор	Элементы
Standard IV-STOCK-21	Al, Ag, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V, Zn
Standard IV-STOCK-28	Au, Hf, Ir, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Sn, Te

Химические анализы проводились в 3-кратной повторности. Полученные данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение. Статистическая значимость различий обсуждаемых результатов оценивалась с помощью теста Тьюки при уровне значимости $\leq 0,05$. Корреляционный анализ проводился по методу Пирсона. Расчеты производились в MS Excel 2021 (Microsoft, США).

Результаты и обсуждение

На рисунке 2 представлены результаты определения общего содержания флавоноидов в экстрактах листьев растений черники. Проведена оценка зависимости общего содержания флавоноидов от расстояния до источника техногенного воздействия. Видно, что содержание флавоноидов лежало в диапазоне $35,6 \pm 0,5$ – $45,4 \pm 0,3$ мг РЕ/г, при общем нелинейном характере распределения, с минимальным значением – на 6 площадке, и максимальным на – 5, соответственно. Как видно из представленных данных, значимое ($p \leq 0.05$) возрастание содержания флавоноидов в исследуемых экстрактах по мере приближения к источнику загрязнения наблюдалось в ряду $1 < 3 < 5$.

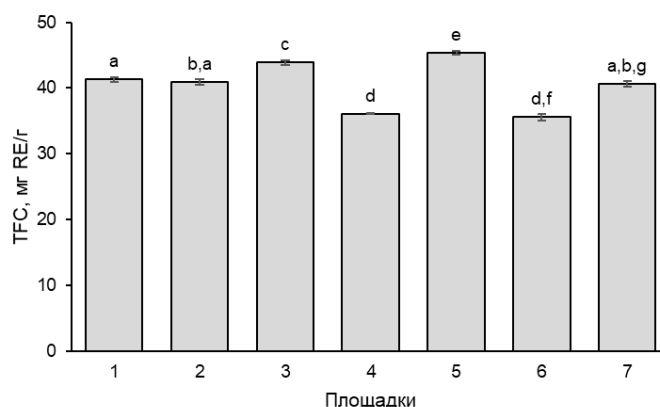


Рис. 2 Вариабельность содержания флавоноидов в экстрактах вегетативных органов растений черники в условиях техногенного загрязнения ОАО «Комбинат Североникель» в 2021 г.

Результаты определения общей антиоксидантной активности экстрактов листьев растений черники представлены на рисунке 3. Проведён анализ зависимости проявляемой полученными экстрактами антиоксидантной активности от расстояния до источника загрязнения. Определено, что содержание веществ, проявляющих антиоксидантную активность, лежало в диапазоне $99,4 \pm 0,8$ – $144,3 \pm 1,2$ мг ААЕ/г при нелинейном характере распределения, с минимальным значением – на 4 площадке, и максимальным – на 2, соответственно. Видно, что значимое ($p \leq 0,05$) возрастание содержания веществ, проявляющих антиоксидантную активность в исследуемых

экстрактах по мере приближения к источнику загрязнения наблюдается в ряду $1 < 5 < 2$.

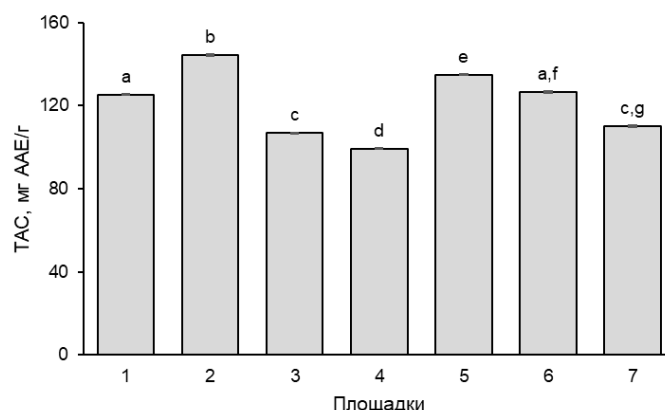


Рис. 3 Вариабельность содержания антиоксидантов в экстрактах вегетативных органов растений черники в условиях техногенного загрязнения ОАО «Комбинат Североникель» в 2021 г.

Для определения степени влияния токсичных элементов на синтез адаптогенных соединений растениями черники, проанализировано содержание входящих в состав выбросов медно-никелевого производства элементов – Mn, Co, Ni, Cu, Zn и Pb [4] в грунте (табл. 2). Установлено, что исследуемая территория характеризуется нелинейной тенденцией накопления тяжелых металлов с максимальными концентрациями Ni, Cu, Zn – 1642,0, 619,8 и 558,0 мг/кг⁻¹ на 7 и 2 площадках, соответственно. Концентрации Co на 1 и 5 площадках одинаковы относительно фоновой территории, и наряду с Mn, Zn и Pb значительно не изменялись во всём исследуемом градиенте, Ni и Cu – увеличивались по мере приближения к источнику загрязнения. Однако, нужно отметить, что содержание Mn, Zn и Pb не превышало предельно допустимые концентрации (ПДК) [11] на всех исследуемых площадках, Cu – на 1 и 5, а Ni – незначительно на 1. Распределение стационарных площадок в ряду увеличения концентраций элементов осуществлялось следующим образом: $5 < 1 < 4 < 2 < 6 < 3 < 7$.

Таблица 2
Содержание элементов (мг/кг⁻¹) в вегетативных органах растений черники, произрастающей в условиях техногенного загрязнения ОАО «Комбинат Североникель»

Название элемента	Номер площадки							ПДК [10]
	1	2	3	4	5	6	7	
Mn	298.5	337.1	428.7	301.3	114.4	394.0	260.9	600.0
Co	7.7	16.8	33.1	15.9	7.2	33.4	59.2	12.0
Ni	41.0	144.7	520.7	194.3	100.7	559.1	1642.0	36.0
Cu	19.0	140.7	289.1	100.6	38.1	192.9	619.8	50.0
Zn	27.9	558.0	44.2	43.3	8.1	42.5	39.3	60.0
Pb	11.6	21.5	19.4	8.6	2.5	8.9	15.0	60.0

Корреляционный анализ выявил умеренное ($r = 0.3$) и среднее ($r = 0.7$) влияние Zn и Pb на сумму флавоноидов в экстрактах листьев растений черники, и среднее ($r = 0.5$ и 0.6) в отношении их влияния на содержание веществ оказывающих антиоксидантное действие, соответственно, оставшиеся элементы – Mn, Co, Ni и Cu, содержащиеся в более значительных концентрациях, демонстрируют обратную ($r = -0.1$

– -0.9) взаимосвязь между синтезом флавоноидов, антиоксидантов и содержанием тяжёлых металлов в грунте.

Многолетние изучения неспецифических реакций растений, вызванных техногенным воздействием, указывают на наличие двухфазной зависимости содержания вторичных метаболитов от интенсивности техногенной нагрузки – пока норма реакции не превышена, наблюдается увеличение синтеза метаболитов, но возрастающая нагрузка, приводит к снижению их синтеза [12]. Описанная закономерность наблюдается и в результатах настоящей работы, растения черники, произрастающие в зоне локального воздействия комбината, синтезируют характерные для фоновых условий концентрации адаптогенов, а их максимальные концентрации зафиксированы в условиях умеренного загрязнения (рис. 1, 2). В исследованиях [3, 13, 14], также описывается снижение содержания флавоноидных компонентов и антиоксидантов при воздействии выбросов цинк-свинцового и медно-никелевого заводов в листьях различных видов семейства вересковых – *Vaccinium myrtillus* L., *V. vitis-idaea* L., *V. uliginosum* L., *Empetrum hermaphroditum* Hager., и отрицательные корреляции в отношении хлорогеновой, хинной и урсоловой кислот. Подобные эффекты были описаны и у представителей других семейств, так в работах [16-18], отмечается снижение концентрации флавоноидов в листьях *Crataegus fallacina* Klovov, *Trifolium pratense* L., *Artemisia absinthium* L., *Taraxacum officinale* L. и *Achillea millefolium* L., произрастающих в зоне промышленных предприятий и вдоль автомобильных дорог.

Таким образом, анализ полученных данных и его согласованность с многолетними исследованиями других авторов, позволяют предположить наличие у растений, произрастающих на исследованной территории, двухфазной зависимости содержания адаптогенов в условиях техногенного стресса, вызванной преимущественно фолиарным способом поглощения тяжёлых металлов, на фоне дополнительных протекторных свойств корневой системы, обеспечивающихся наличием микоризы в корнях представителей семейства вересковых, способствующих снижению поглощения излишних элементов из почвы, что позволяет, в частности представителям рода *Vaccinium* L., произрастать на территориях, подвергшихся очень высокому уровню загрязнения [19].

Полученные данные могут стать основой для проведения более детальных исследований влияния техногенного воздействия на синтез адаптогенных соединений в различных органах растений, произрастающих в условиях техногенного стресса.

Выводы

Анализ зависимости синтеза общего содержания флавоноидов и общей антиоксидантной активности от расстояния до источника техногенных выбросов, не выявил связи содержания адаптогенных соединений с концентрацией тяжелых металлов в грунте. Отмечен общий нелинейный характер пространственного распределения в отношении суммы флавоноидов и их антиоксидантной активности. Установлена нелинейная тенденция содержания тяжелых металлов в грунте с распределением пробных площадок в ряду увеличения концентраций элементов: $5 < 1 < 4 < 2 < 6 < 3 < 7$.

Результаты проведённых исследований позволяют рассматривать листья черники обыкновенной в качестве потенциального источника фенольных компонентов и могут стать основой для проведения более детальных исследований синтеза адаптогенных соединений растениями в условиях техногенного стресса, с целью лучшего понимания двухфазной зависимости содержания вторичных метаболитов от интенсивности техногенной нагрузки.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания
ФИЦ КНЦ РАН FMEZ-2023-0012.

Список литературы

1. Бейдеман И.Н. Методика фенологических наблюдений при геоботанических исследованиях. – М.; Л. – 1954. – 130 с.
2. ГОСТ 17.4.4.02-2017. Межгосударственный стандарт. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. – М., 2017. – 10 с.
3. Крючков В.В., Макарова Т.Д. Аэротехногенное воздействие на экосистемы Кольского Севера. Апатиты. – 1989. – 96 с.
4. Середя Л.Н., Жиров В.К., Цветов Н.С., Дрогобужская С.В. Изменчивость содержания адаптогенных соединений в различных органах *Empetrum hermaphroditum* Nagel. в условиях техногенного загрязнения на Кольском полуострове // Химия растительного сырья. – 2024. – №2. – С. 293-301. DOI: 10.14258/jcprm.20240213032.21.
5. ОФС.1.1.0011.15 Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов // Государственная фармакопея РФ. XIV изд.: М. – 2018.
6. Чуддзиян Х., Курвета С., Фацек З. Тяжелые металлы в почвах и растениях. – 1988. – С. 5-24.
7. Afanasyeva L.V., Kashin V.K. The chemical composition and productivity of *Vaccinium myrtillus* L. under influence of industrial pollution // Journal of Siberian Federal University. Biology. – 2015. – Vol. 8(3). – p. 333. DOI: 10.17516/1997-1389-2015-8-3-333-346
8. Białońska D., Zobel A.M., Kuraś M., Tykarska T., Sawicka-Kapusta K. Phenolic compounds and cell structure in bilberry leaves affected by emissions from a Zn–Pb smelter // Water, Air, and Soil Pollution. – 2007. – Vol. 181. – p. 123-133. DOI: 10.1007/s11270-006-9284-x
9. Bradley R., Burt A.J., Read D.J. The biology of mycorrhiza in the *Ericaceae*: VIII. The role of mycorrhizal infection in heavy metal resistance // New Phytologist. – 1982. – Vol. 91(2). – p. 197-209. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1982.tb03306.x
10. Kalugina O.V., Afanasyeva L.V., Mikhailova T.A., Filinova N.V. Activity of low-molecular weight components of *Larix sibirica* antioxidant system under exposure to technogenic pollution // Ecotoxicology. – 2022. – Vol. 31(10) – p. 1492-1505. DOI: 10.1007/s10646-022-02607-6
11. Lyanguzova, I.V. Airborne heavy metal pollution and its effects on biomass of ground vegetation, foliar elemental composition and metabolic profiling of forest plants in the Kola peninsula (Russia) // Russian Journal of Plant Physiology. – 2021. – Vol. 68(1). – p. 140-149. DOI: 10.1134/S1021443721070086
12. Meier U. Growth stages of mono- and dicotyledonous plants BBCH. – Quedlinburg. – 2018. – 204 p. DOI: 10.5073/20180906-074619.
13. Nikitina, V.S., Kuz'mina, L.Y., Melent'ev, A.I., Shendel' G.V. Antibacterial activity of polyphenolic compounds isolated from plants of *Geraniaceae* and *Rosaceae* families // Applied biochemistry and microbiology. – 2007. – Vol. 43. – p. 629-634. DOI: 10.1134/S0003683807060117
14. Pires T.C.S.P., Caleja C., Santos-Buelga C., Barros L., Ferreira I.C.F.R. *Vaccinium myrtillus* L. fruits as a novel source of phenolic compounds with health benefits

and industrial applications-a review // Current pharmaceutical design. – 2020. – Vol. 26(16). – p. 1917-1928. DOI: 10.2174/1381612826666200317132507

15. Santiago L.J.M., Louro R.P., De Oliveira D.E. Compartmentation of phenolic compounds and phenylalanine ammonia-lyase in leaves of *Phyllanthus tenellus* Roxb. and their induction by copper sulphate // Annals of botany. – 2000. – Vol. 86(5). – p. 1023-1032. DOI: 10.1006/anbo.2000.1271

16. Slukovskaya M.V., Kremenetskaya I.P., Mosendz I.A., Ivanova T.K., Drogobuzhskaya S.V., Ivanova L.A., Novikov A.I., Shirokaya A.A. Thermally activated serpentine materials as soil additives for copper and nickel immobilization in highly polluted peat // Environmental Geochemistry and Health. – 2023. – Vol. 45(1). – p. 67-83. DOI: 10.1007/s10653-022-01263-3.

17. Ștefănescu R., Laczkó-Zöld E., Ösz B.-E., Vari C.-E. An updated systematic review of *Vaccinium myrtillus* leaves: Phytochemistry and pharmacology // Pharmaceutics. – 2022. – Vol. 15(1). – p. 16. DOI: 10.3390/pharmaceutics15010016

18. Vinogradova N. A., Glukhov A. Z. Ecological and phytochemical features of *Crataegus fallacina* Klokov under conditions of technogenic pollution // Contemporary Problems of Ecology. – 2021. – Vol. 14. – p. 90-97. DOI: 10.1134/S1995425521010091

19. Vinogradova N., Vinogradova E., Chaplygin V., Mandzhieva S., Kumar P., Rajput V.D., Minkina T., Seth C.S., Burachevskaya M., Lysenko D., Singh R.K. Phenolic compounds of the medicinal plants in an anthropogenically transformed environment // Molecules. – 2023. – Vol.28(17). – p. 6322. DOI: 10.3390/molecules28176322

Статья поступила в редакцию 11.09.2024 г.

Sereda L.N., Zhirov V.K., Dorogobuzhskaya S.V. Variability of the content of phenolic compounds in the vegetative organs of *Vaccinium myrtillus* L. in conditions of manmade pollution // Bull of the State Nikita Botan. Gard. - 2025. - № 155 - P.18-25

The study of the patterns of enhanced synthesis of secondary metabolites by plants continuously exposed to man-made effects is one of the urgent tasks. Violations of the structural organization of biocenoses can lead to complete degradation of vegetation in large areas. One of the sources of man-made stress on the Kola Peninsula is the Severonikel copper-nickel combine (JSC Kola MMC), located in the central industrial part of the peninsula, whose emissions contain high concentrations of heavy metals. One of the dominant species of the herbaceous shrub layer is blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.), a deciduous shrub of the heather family (*Ericaceae* Juss.), whose leaves synthesize flavonoids, polyphenolic acids, stilbens, causing significant hypoglycemic, anti-inflammatory, restorative activity. The purpose of this work is to study the variability of the content of flavonoid compounds in the vegetative organs of *Vaccinium myrtillus* L., growing under conditions of man-made pollution in the Arctic zone of the Russian Federation. As a result of the work, the dependence of the synthesis of flavonoids and antioxidants on the distance to the source of man-made pollution was analyzed. The general nonlinear nature of the spatial distribution in relation to the amount of flavonoids and total antioxidant activity is noted. A nonlinear tendency of accumulation of heavy metals has been established.

Key words: *Vaccinium myrtillus* L.; biologically active substances; technogenic pollution; ultrasound-assisted extraction; Arctic