



## ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЦИННИИ ПРИ ИЗБЫТКЕ ИОНОВ МЕДИ В СУБСТРАТЕ

Пермяков А.Р., Ермошин А.А., Тугбаева А.С., Киселёва И.С.

ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина,  
Россия, 620002, Екатеринбург, пр. Мира, 19

Е-mail: [Alexander.Ermoshin@urfu.ru](mailto:Alexander.Ermoshin@urfu.ru)

### Резюме

Изменение качественного и количественного состава фенольных соединений в ответ на неблагоприятные воздействия окружающей среды активно изучается, прежде всего, в связи с антиоксидантной функцией этих соединений. Однако, известно, что такие фенольные соединения как фенилпропаноиды участвуют в лигнификации клеточных стенок. Отложение лигнина является не только естественным процессом формирования вторичных клеточных стенок, но также его часто рассматривают как неспецифическую реакцию растений в условиях стресса. Однако изменение содержания и состава фенольных соединений при лигнификации в ответ на стрессоры изучено недостаточно. Ранее нами было показано уменьшение количества фенольных соединений в ответ на действие ионов меди, но дискуссионным оставался вопрос о том, расходуются ли они на процесс лигнификации или на гашение активных форм кислорода. В связи с этим целью данной работы являлось выявление изменений количества и состава фенольных соединений различной полярности в осевых органах циннии при выращивании в среде с избытком ионов меди. Показано, что при стрессе, вызванном ионами меди (полив субстрата раствором 200 мкМ сульфата меди), в корнях 40-дневных растений циннии суммарное содержание фенольных соединений менялось мало, однако содержание растворимых в диэтиловом эфире (оксикоричные кислоты) и этилацетате (агликоны флавоноидов и кумарины) фракций снижалось, что может свидетельствовать об использовании фенилпропаноидов на дополнительный синтез лигнина, а флавоноидов – на антиоксидантные реакции при стрессе. В гипокотиле содержание оксикоричных кислот незначительно увеличивалось, а в первом междоузлии не менялось. Основную часть фенольных соединений во всех органах составляла фракция гликозилированных производных. При этом, в опытных растениях содержание водорастворимых фенолов увеличивалось во всех органах. Таким образом, в условиях стресса, вызванного ионами меди, состав и количество фенольных соединений изменяется.

**Ключевые слова:** цинния изящная, фенольные соединения, осевые органы, ионы меди.

**Цитирование:** Пермяков А.Р., Ермошин А.А., Тугбаева А.С., Киселёва И.С. Изменение спектра фенольных соединений циннии при избытке ионов меди в субстрате // *Biomics*. 2022. Т.14(4). С. 305-309.  
DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-29

© Авторы

## CHANGES IN THE SPECTRUM OF ZINNIA PHENOLIC COMPOUNDS WITH AN EXCESS OF COPPER IONS IN THE SUBSTRATE

Permyakov A.R., Ermoshin A.A., Tugbaeva A.S., Kiseleva I.S.

Ural Federal University named after B.N. Yeltsin, Russia, 620002, Ekaterinburg, 19 Mira Ave.  
E-mail: [Alexander.Ermoshin@urfu.ru](mailto:Alexander.Ermoshin@urfu.ru)

### Resume

Changes in the qualitative and quantitative composition of phenolic compounds in response to adverse environmental influences are actively studied, primarily in connection with the antioxidant function of these compounds. However, phenolic compounds such as phenylpropanoids are known to be involved in cell wall lignification. Lignin deposition is not only a natural process for the formation of secondary cell walls, but it is also often considered as a non-specific reaction of plants under stress conditions. However, changes in the content and composition of phenolic compounds during lignification in response to stressors have not been studied enough. Previously, we showed a decrease in the amount of phenolic compounds in response to the action of copper ions, but the question remained whether they are spent on the lignification process or on the quenching of reactive oxygen species. In this regard, the purpose of this work was to identify changes in the amount and composition of phenolic compounds of different polarity in the axial organs of zinnia when grown in a medium with an excess of copper ions. It was shown that under stress caused by copper ions (watering the substrate with a solution of 200  $\mu\text{M}$  copper sulfate), in the roots of 40-day-old zinnia plants, the total content of phenolic compounds did not change significantly. At the same time, the content of fractions soluble in diethyl ether (hydroxycinnamic acids) and ethyl acetate (aglycones of flavonoids and coumarins) decreased, which may indicate the use of phenylpropanoids for additional synthesis of lignin, and flavonoids for antioxidant reactions under stress. In the hypocotyl, the content of hydroxycinnamic acids slightly increased, while in the first internode it did not change. The main part of phenolic compounds in all organs, both in control stressed plants, belonged to the fraction of glycosylated derivatives. At the same time, among this derivatives the content of water-soluble phenols increased in the experimental plants in all organs. Thus, under the stress caused by copper ions, the composition and number of phenolic compounds changed.

**Key words:** zinnia, phenolic compounds, axial organs, copper ions.

**Citation:** Permyakov A.R., Ermoshin A.A., Tugbaeva A.S., Kiseleva I.S. Changes in the spectrum of Zinnia phenolic compounds with an excess of copper ions in the substrate. *Biomcs*. 2022. V.14(4). P. 305-309. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-29 (In Russian)

### © Authors

#### Введение

Фенольные соединения – обширная группа метаболитов, объединённых общим, шикиматным путем биосинтеза и содержащих в структуре ароматическое кольцо и гидроксильную группу. Классификация фенольных соединений основана на количестве ароматических колец, их взаимном расположении, количестве атомов углерода в скелете и количестве гидроксильных групп. Большое разнообразие структур приводит к функциональному разнообразию данной группы соединений [Fraser et al., 2011].

У растений фенолпропаноиды ( $\text{C}_6\text{-C}_3$  соединения) участвуют в образовании лигнина. Кроме того, они вовлечены в защиту растений от окислительного стресса, так же, как и другие фенольные соединения. Известно, что одной из неспецифических реакций на стресс является усиление лигнификации осевых органов растений - корня и стебля, которые выполняют, помимо других, функцию транспорта воды и растворенных в ней веществ и ионов.

Изменения качественного и количественного состава фенольных соединений в ответ на неблагоприятные воздействия окружающей среды активно изучаются, однако корень и стебель являются объектами таких исследований значительно реже, чем листья [Tugbaeva et al., 2022].

Цинния изящная – стандартная модель для изучения процессов лигнификации [Pesquet et al., 2013]. Ранее нами было показано уменьшение количества фенольных соединений в ответ на действие ионов меди, но дискуссионным оставался вопрос, расходуются ли они на процесс лигнификации или на гашение активных форм кислорода [Tugbaeva et al., 2022].

Целью данной работы была оценка содержания фенольных соединений различной полярности в осевых органах циннии при избытке ионов меди в субстрате.

#### Материалы и методы

Растения циннии изящной (*Zinnia elegance* L.) сорта Красная шапочка культивировали в смеси

кокосовый субстрат – торф (1:3). В течение 30 дней при поливе в субстрат вносили сульфат меди, концентрация раствора 200 мкМ. Далее растения доращивали до 40-дневного возраста, поливая дистиллированной водой. Детали культивирования растений, обоснование выбора концентрации ионов меди, содержание меди в субстрате и органах растений в конце эксперимента описаны нами ранее [Plotnikov et al., 2021; Tugbaeva et al., 2022].

На 40-й день культивирования была проведена исчерпывающая экстракция фенольных соединений из осевых органов – корня, гипокотили и первого междоузлия. Для получения экстракта использовали усредненную пробу корней, гипокотили и первого междоузлия, полученную из 10 растений. Экстракцию проводили 70% этанолом (соотношение биомасса: экстрагент – 1:10, повторность экстракции – 3-кратная). Объединённый этанольный экстракт упаривали до сухого остатка на водяной бане, очищали от липидов и пигментов петролейным эфиром. Обезжиренный сухой остаток последовательно обрабатывали растворителями возрастающей полярности – диэтиловым эфиром, этилацетатом, н-бутанолом, водой. Были получены 4 фракции, содержащие преимущественно оксикоричные кислоты (извлечение в диэтиловый эфир), агликоны флавоноидов и кумарины (этилацетатная фракция), гликозилированные формы фенольных соединений (бутанольная и водная фракции) [Андреева и др., (Andreeva et al.), 2007]. Определение суммарного содержания фенольных соединений проводили спектрофотометрическим методом с реактивом Фолина-Чекольтеу [Ermoshin et al., 2021] в трех биологических и пяти аналитических повторностях. Достоверность отличий определяли с использованием непараметрического U-критерия Мана-Уитни, расчеты проводили с использованием программного пакета Statistica 8.

### Результаты и обсуждение

Суммарное содержание фенольных соединений в корне в опыте 40-дневных растений не отличалось от контроля, тогда как ранее мы показали, что у 20-дневных растений циннии в ответ на обработку ионами меди происходило уменьшение содержания фенольных соединений [Tugbaeva et al., 2022]. Данное противоречие может быть объяснено тем, что растения к 40-му дню адаптировались к неблагоприятному действию ионов меди, или их реакция на воздействие ионов меди отличалась на разных фазах развития – содержание фенольных соединений в корне было в два раза больше, чем у растений на 20 день. Другой возможной причиной является усиленное отложение лигнина в клеточных

стенках тканей корня при длительном культивировании растений в среде с избытком меди. В гипокотиле и первом междоузлии, в отличие от корня, происходило снижение содержания фенольных соединений при обработке субстрата ионами меди, что совпадает с данными, полученными нами ранее на 20-дневных растениях [Tugbaeva et al., 2022]. При этом в гипокотиле изменения были более существенны, чем в первом междоузлии. Это может быть связано как с большим возрастом гипокотилия в сравнении с междоузлием, так и снижением уровня стресса, обусловленного градиентом меди в растении при движении вверх от корня.

Анализ фракционного состава фенольных соединений показал, что, несмотря на отсутствие отличий в суммарном содержании фенольных соединений в корне, в ответ на действие ионов меди происходило изменение их фракционного состава – уменьшалась доля оксикоричных кислот, которые участвуют в синтезе лигнина. Также происходило уменьшение доли агликонов флавоноидов, однако увеличивалась доля гликозилированных фенольных соединений. Это подтверждает наше предположение [Tugbaeva et al., 2022], о том, что фенолы расходуются на синтез лигнина в корне, а также свидетельствует о том, что в нем происходило накопление антиоксидантов для борьбы с окислительным стрессом, вызванным ионами меди (таблица).

В стебле также происходило изменение фракционного состава фенольных соединений. В гипокотиле снижение содержания суммы фенольных соединений было обусловлено уменьшением содержания гликозилированных форм при росте доли оксикоричных кислот. При движении вверх по стеблю отличия становятся все менее существенными – в сравнении с гипокотилем в первом междоузлии у стрессированных растений не происходит существенного изменения суммарного содержания фенольных соединений, не меняется доля оксикоричных кислот, но происходит существенное увеличение доли водорастворимых гликозидов фенольных соединений (таблица).

Основную часть фенольных соединений во всех органах, как у контрольных, так и у стрессированных растений, составляла фракция гликозилированных производных – 57-67%. В корне опытных растений изменение содержания этих производных увеличилось наиболее сильно, преимущественно за счет водорастворимых фенолов. Таким образом, в условиях стресса, вызванного ионами меди, изменялся состав и количество фенольных соединений, которые использовались как на лигнификацию, так и на антиоксидантные реакции.

Таблица. Содержание фенольных соединений по фракциям и в сумме  
Table. The content of phenolic compounds by fractions and in total

Орган (Part)	Корень root		Гипокотиль hypocotyl		1 междоузлие 1 internode	
	0 (контроль) control	200	0 (контроль) control	200	0 (контроль) control	200
Ионы $\text{Cu}^{2+}$ , мкМ	0 (контроль) control	200	0 (контроль) control	200	0 (контроль) control	200
Фенолы общие, мг/г Phenols, total, mg/g	0,86±0,03	0,85±0,02	1,06±0,02	0,87±0,02 *	0,91±0,02	0,87±0,01
Фракция диэтиловый эфир, % Diethyl ether fraction, %	21,6	17,6 *	15,5	18,3 *	16,8	17,4
Фракция этилацетат, % Ethyl acetate fraction, %	21,4	18,3 *	17,3	20,3	18,9	16,7
Фракция н-бутанол, % n-butanol fraction, %	19,2	18,9	17,5	19,3	19,0	17,8
Фракция водный остаток, % Water residue fraction, %	37,8	45,2 *	49,8	42,2 *	45,4	48,1 *

\* – отличия между контролем и опытом достоверны при  $p < 0,05$ .

\* - differences between control and experiment are significant at  $p < 0.05$ .

### Заключение

Фенольные соединения в растениях выполняют множественные функции, в том числе, они являются предшественниками лигнина, образующегося как в норме при формировании клеточных стенок растений, так и как неспецифический ответ на стрессоры. В нашем исследовании в ответ на стресс, вызванный избытком ионов меди в субстрате, в осевых органах растений циннии происходило изменение не только суммарного содержания фенольных соединений, но и их фракционного состава.

Наиболее сильные отличия в содержании фенольных соединений происходили во фракциях с «крайними» значениями полярности – оксикоричных кислот и гликозилированных производных. Полученные данные позволяют предполагать, что сдвиг во фракционном составе фенольных соединений при стрессе, вызванном избытком меди в среде, обусловлен потребностью в лигнификации клеточных стенок осевых органов с целью ограничения поступления этого поллюганта в активно растущие части побега растений.

Результаты исследования согласуются с данными, полученными нами ранее об усилении лигнификации осевых органов растений циннии при стрессе. Таким образом, вопрос о том, в чем причина снижения содержания суммы фенольных соединений у циннии при стрессе, может быть прояснен. Уменьшение количества оксикоричных кислот, являющихся предшественниками лигнина, свидетельствует об их использовании для образования радикалов, из которых синтезируется лигнин. Особенно выражен сдвиг спектра фенольных соединений в корне, поскольку этот орган раньше других испытывает стрессовое воздействие и служит барьером на пути транспорта ионов меди в надземные органы циннии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00817, <https://rscf.ru/project/22-24-00817/>.

### Литература

1. Андреева В.Ю., Калинкина Г.И. Исследование химического состава надземной части манжетки обыкновенной *Alchemilla vulgaris* L. S.L. // Химия растительного сырья. 2000. №2. С.79–85.

2. Fraser C.M., Chapple C. The phenylpropanoid pathway in *Arabidopsis* // *The Arabidopsis Book*. 2011. 9. e0152. DOI: 10.1199/tab.0152
  3. Pesquet E., Zhang B., Andras Gorzsas A., Puhakainen T.; Serk, H., Escamez S., Barbier O., Gerber L., Courtois-Moreau C., Alatalo, E. Non-cell-autonomous postmortem lignification of tracheary elements in *Zinnia elegans* // *Plant Cell*. 2013. V. 25. P. 1314–1328. DOI: 10.1105/tpc.113.110593
  4. Plotnikov D.S., Tugbaeva A.S., Ermoshin A.A., Kiseleva I.S. Response reactions of *Zinnia elegans* seedlings to the impact of different copper ions concentrations // *AIP Conf. Proc.* 2021. V. 2388. 030034. DOI:10.1063/5.0068392
  5. Tugbaeva A., Ermoshin A., Wuriyangan H., Maleva M., Borisova G., Kiseleva I. Copper Stress Enhances the Lignification of Axial Organs in *Zinnia elegans* // *Horticulturae*. 2022. V.8. P.558. DOI: 10.3390/horticulturae8060558
- References**
1. Andreyeva, V.Y., Kalinkina, G.I. Issledovaniye khimicheskogo sostava nadzemnoy chasti manzhetki obyknovennoy *Alchemilla vulgaris* L. S.L. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2000. № 2. P. 79-85. [Study of the chemical composition of the aerial part of the common mantle *Alchemilla vulgaris* L.S.L.] (in Russian)
  2. Fraser C.M., Chapple C. The phenylpropanoid pathway in *Arabidopsis*. *The Arabidopsis Book*. 2011. 9. e0152. DOI: 10.1199/tab.0152
  3. Pesquet E., Zhang B., Andras Gorzsas A., Puhakainen T.; Serk, H., Escamez S., Barbier O., Gerber L., Courtois-Moreau C., Alatalo, E. Non-cell-autonomous postmortem lignification of tracheary elements in *Zinnia elegans*. *Plant Cell*. 2013. V. 25. P. 1314–1328. DOI: 10.1105/tpc.113.110593
  4. Plotnikov D.S., Tugbaeva A.S., Ermoshin A.A., Kiseleva I.S. Response reactions of *Zinnia elegans* seedlings to the impact of different copper ions concentrations. *AIP Conf. Proc.* 2021. V. 2388. 030034. DOI:10.1063/5.0068392
  5. Tugbaeva A., Ermoshin A., Wuriyangan H., Maleva M., Borisova G., Kiseleva I. Copper Stress Enhances the Lignification of Axial Organs in *Zinnia elegans*. *Horticulturae*. 2022. V.8. P.558. DOI: 10.3390/horticulturae8060558