



## BIOCHEMINIŲ RODIKLIŲ IR ANTIOKSIDACINIO AKTYVUMO POKYČIAI PAPRASTOSIOS EGLĖS (*PICEA ABIES* (L.) H. KARST.) SPYGLIUOSE PO POVEIKIO FIZIKINIAIS STRESORIAIS

Ieva Lučinskaitė<sup>1</sup>, Vaida Sirgedaitė-Šežienė<sup>2</sup>, Kristina Laužikė<sup>3</sup>, Vytautas Česna<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup>Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras. Miškų institutas

<sup>3</sup>Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras. Sodinkystės ir daržininkystės institutas

<sup>4</sup>Vytauto Didžiojo universitetas

El. p. <sup>1</sup>[ieva.luc@gmail.com](mailto:ieva.luc@gmail.com); <sup>2</sup>[vaida.seziene@mi.lt](mailto:vaida.seziene@mi.lt); <sup>3</sup>[k.lauzike@ltdi.lt](mailto:k.lauzike@ltdi.lt); <sup>4</sup>[v.cesna1994@gmail.com](mailto:v.cesna1994@gmail.com)

**Anotacija.** Tam, kad augalai augtų sveiki ir turėtų naudingų medžiagų, yra naudojamos įvairios cheminės medžiagos – pesticidai. Vis dėlto šių junginių naudojimas žemės ūkyje gali atsileipti neigiamai dirvožemiui, gyvūnijai bei žmogui. Šiame darbe tiriama viena iš galimų alternatyvų – fizikinių stresorių (šaltosios plazmos (ŠP) ir elektromagnetinio lauko (EML) panaudojimas. Tiriant antrinių metabolitų (fenolinių junginių) koncentraciją paprastosios eglės skirtingų genitinių šeimų spygliuose, nustatyta, kad trumpalaikis (1 minutė) ŠP poveikis turėjo teigiamą įtaką 5-ioms iš 7-ių tiriamųjų eglės šeimoms (577, 477, 463, 541, 548). Ypač išsiskyrė 541 šeima, kurioje fenolinių junginių koncentracija nustatyta 5,032 mg g<sup>-1</sup> didesnė nei kontrolėje. Didžiausia flavonoidų koncentracija išsiskyrė 541 eglės šeima (esant ŠP1) – čia ji ne tik teigiamai skyrėsi nuo kontrolės, bet ir turėjo didžiausią šių junginių koncentraciją, palyginti su visomis tirtomis šeimomis. Antioksidacinio aktyvumo tyrimas daromas ir kita žmogui naudinga intencija – siekiant patikrinti, ar fizikiniai stresoriai daro įtaką šių junginių kiekiui, nes mokslininkai siekia atrasti būdų, kurie leistų augalus naudoti kaip natūralius antioksidantus. Atlikus tyrimus nustatyta, kad pasitelkiant ir DPPH, ir ABTS metodą, teigiamas fizikinio stresoriaus poveikis nustatytas 541 ir 577 šeimose (palyginti su kontrole, atitinkamai padidėjo 4 mM/ml ir 30 mM/ml). Atlikus šiuos tyrimus galima daryti prielaidą, kad 541 paprastosios eglės šeimai teigiamas poveikis nustatytas ŠP1 stresoriaus – esant šioms sąlygoms didesnis, palyginti su nepaveiktomis eglėmis, augalui svarbių fenolinių junginių ir flavonoidų kiekis, taip pat ir žmogui naudingas antioksidacinis aktyvumas.

**Reikšminiai žodžiai:** aplinkos apsauga, genetinė atranka, fizikiniai stresoriai, paprastoji eglė, šaltoji plazma.

### Įvadas

Šių dienų mokslininkai didelį dėmesį skiria aplinkos apsaugai – siekia atrasti būdų, kurie mažintų kenksmingų cheminių medžiagų vartojimą, norint išauginti sveikus medžius. Labai dažnai siekiant sunaikinti augalo gyvybingumą slopinančius kenkėjus, žemės ūkyje naudojami įvairaus pobūdžio pesticidai (Mahmood ir kt., 2015). Deja, per didelis kiekis naudojamų cheminių preparatų gali sukelti negrįžtamą, neigiamą pokyčių aplinkai (Gill ir Garg, 2014). Todėl didelis dėmesys skiriamas inovatyvių technologijų panaudojimui pramonėje, siekiant atrasti būdų, kurie leistų saugoti aplinką. Dėl savo unikalių savybių (aktyvių dalelių buvimo, mažos ultravioletinės spinduliuotės ir elektromagnetinių laukų intensyvumo) šaltosios plazmos technologijos yra pritaikytos daugelyje sričių. Mokslinė literatūra (Šera ir Šery 2018; Bourke ir kt., 2018) pažymi, kad inovatyvių technologijų

panaudojimas yra aktualus, siekiant padidinti augalų produktyvumą bei prisidėti prie aplinkos apsaugos. Šios technologijos gali būti naudojamos kaip naujos alternatyvios priemonės, siekiant suaktyvinti biologiškai aktyvių junginių sintezę augaluose, nepakenkiant gamtai ir žmonėms bei siekiant užtikrinti pakankamus maisto išteklius nuolat augančiai žmonių populiacijai.

Sumedėjusių augalų liekanose yra didelis kiekis polifenolių, kurie sudaro pagrindinę augalų antrinių metabolitų grupę (flavonoidai, fenolio rūgštys, kondensuoti ir hidrolizuoti taninai). Besivystančioje pramonėje sumedėjusių augalų liekanų panaudojimo galimybės sparčiai auga, o ekstraktai, išgauti iš įvairių augalo dalių (pvz., spyglių, žievės, pumpurų ir kt.), vis labiau populiarėja kosmetikos, farmacijos bei maisto pramonėje.

*Pinacea* rūšys laikomos natūraliu antioksidantų junginių šaltiniu (Tanase ir kt., 2019), daugybė tyrimų parodė, kad šios rūšys pasižymi farmacinėmis ir maistinėmis savybėmis (Maffei, 2014; Pietruszewski ir Martinez, 2015). Eglių spyglius senovėje įvairios gentys naudojo malšindamos kosulį ir gerklės skausmą (Tanase ir kt., 2019). Tyrimai rodo, kad skirtingos paprastosios eglės genetinės šeimos pasižymi skirtingomis adaptacinėmis savybėmis (Thor ir Stenlid, 2007). Atliekant tyrimus svarbi genetinė atranka, nes atsakas į sukeltą stresą gali varijuoti priklausomai nuo augalo genetinės šeimos adaptyvumo.

## Metodika

**Sėklų apdorojimas ŠP bei EML:** kiekvienas genotipas paveiktas dviem skirtingais fizikiniais poveikiais: 1) žemos temperatūros atmosferine DBD plazma (poveikio trukmė 1 ir 2 minutės); 2) elektromagnetiniu lauku (poveikio trukmė 2 minutės). Kiekvienu atveju apdorojama po 80 sėklų, kiekvienam genotipui parinkta kontrolė – po 80 fizikiniais poveikiais nepaveiktų sėklų. Iš viso 2240 sėklų (7 genotipai × 4 grupės × 80 sėklų). Fizikiniais poveikiais paveikta sodinama medžiaga pasėta į daigytuvus. Sėjai parinktas durpių substratas. Praėjus mėnesiui po sėjos vertinamas sėklų daigumas. Tolimesnio augimo tikslu palikta po 40 kiekvieno poveikio sėjinukų (4 paprastosios eglės šeimos × 3 skirtingi poveikiai (ŠP1, ŠP2, EML2) ir kontrolė × 3 biologiniai pakartojimai = 48 mėginiai bei 3 paprastosios eglės šeimos × 2 skirtingi poveikiai (ŠP1, ŠP2) ir kontrolė × 3 biologiniai pakartojimai = 27 mėginiai. Iš viso 75 mėginiai).

Dielektrinio barjero iškrova (DBD, angl. – *dielectric barrier discharge*) – elektros iškrova tarp vielinių elektrodų, atskirtų izoliacine dielektrine medžiaga (keraminium užpildu). Sėklos apdorojamos naudojant Japonijos partnerių sukonstruotą reguliuojamą DBD iškrovos įrenginį (Sarinont ir kt., 2016), kurio homogeniško poveikio plotas yra 4×4,38 cm<sup>2</sup> (nustatomas, atsižvelgiant į pH pokyčius po elektrodų įmontuotos plokštelės šulinėliuose). Bandymui atrinktos nepažeistos sėklos išdėliojamos vienu sluoksniu pažymėtoje homogeniško poveikio zonoje ant stiklinės plokštelės, kuri montuojama po elektrodus. Sėklų paviršiaus atstumas nuo viršutinio elektrodo 5 mm. Išlydžio įtampa, srovė ir galios tankis atitinkamai 7,0 kV, 0,2 A ir 3,1 W/cm<sup>2</sup>. Apdorojimo laikas 1 ir 2 min., esant 5 mm atstumui tarp sėklų paviršiaus ir elektrodų plokštelės. Sėklos apdorotos, esant atmosferiniam slėgiui, kambario temperatūrai ir 45–55 % oro drėgmei.

Sėkloms apdoroti EML buvo naudota originali įranga, sukonstruota VGTU mokslininkų. Sėklos laikomos 2 min. 2,5 cm atstumu virš indukcinės ritės (vidinis skersmuo 2,5 cm, išorinis skersmuo 3 cm) centro, Taikyti EML parametrai – 100 kHz, 10 mT (kitos sąlygos – kambario temperatūra, atmosferos slėgis).

Ekstraktams paruošti imti antrų metų eglių sėjinukų spygliai. Apie 0,5 g žaliavos sutrinta naudojant analitinę laboratorinę malimo mašiną A11 (Staufen, Vokietija). Homogenizuotas turinys užpiltas 10 ml 75 % metanolio tirpalu ir paliktas 24 valandų ekstrakcijai naudojant inkubatorinę *Kühner* purtyklę (Adolf Kühner AG, Šveicarija) 150 kartų per minutę greičiu, 25 °C temperatūros sąlygomis. Po ekstrakcijos visi mėginiai nufiltruoti per Rotilabo® – 113A celiuliozės membraninius (Ø 90 mm) filtrus (Carl Roth, Vokietija).

**Suminio fenolinių junginių kiekio nustatymas:** suminis fenolinių junginių kiekis įvertintas spektrofotometrinio metodu naudojant *Folin-Ciocalteu* reagentą pagal (Slinkard ir Singleton, 1977) metodą ir matuojant esant 760 nm bangos spektre. Mėginiui paruošti 100 µl metanolinio ekstrakto sumaišyta su 2,5 ml distiliuotu vandeniu ir 100 µl *Folin-Ciocalteu* reagentu. Gerai išmaišoma ir laikoma 6 min. Po 6 minučių į mėginį įpilama 5 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ir paliekama tamsoje 30 min. prieš matavimą kambario temperatūros sąlygomis. Matavimai atlikti naudojant T80 UV-VIS spektrofotometrą (PG Instruments, Jungtinė Karalystė) su 1 cm kvarcinėmis kiuvetėmis. Kiekvienam mėginio variantui atlikti trys analitiniai pakartojimai. Suminis fenolinių junginių kiekis išreikštas pagal chlorogeninės rūgšties ekvivalentą mg/100 g žalios masės.

**Suminio flavonoidų kiekio nustatymas:** suminis flavonoidų kiekis įvertintas spektrofotometrinio metodu, paremtu flavonoidų ir Al (III) komplekso susidarymu (Drózdž ir Pyrzynska, 2019). Absorbcija matuojama esant 470 nm bangos spektre, naudojant Synergy HT Multi-Mode Microplate skaitytuvą (BioTek Instruments, Inc, Germany). 1 ml metanolinio ekstrakto sumaišyta su 0,3 ml 5 % (w/v) NaNO<sub>2</sub> ir po 5 min. supilti 0,5 ml AlCl<sub>3</sub> (2 % w/v). Mėginys sumaišytas ir po 6 minučių neutralizuotas supilant 0,5 ml 1M NaOH. Suminis flavonoidų kiekis išreikštas pagal katechino ekvivalentą mg/100 g žalios masės.

Suminis fenolinių junginių ir flavonoidų kiekis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\text{Kiekis, mg/g} = \frac{C \cdot V}{m}, \quad (1)$$

$C$  – koncentracija mg/ml, gauta iš kalibracinės kreivės;  
 $V$  – ekstrakto tūris, ml;  $m$  – atsvertas žaliavos kiekis, g.

**DPPH radikalų aktyvumas:** DPPH radikalų aktyvumas matuojamas po reakcijos su 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), remiantis Ragae ir kt. (2006) metodika. 0,1 ml paruošto metanolinio ekstrakto sumaišyta su 0,4 ml 75 % MeOH ir 1 ml DPPH (0,1 mM koncentracijos). Sumašyto mėginio absorbcija matuojama po 16 minučių 515 nm bangos ilgiu, naudojant spektrofotometrą Genesys 6 (Thermospectronic, USA). DPPH ir MeOH naudojamas kaip palyginamasis tirpalas.

DPPH surišimo geba išreiškiama standartinio antioksidanto trolokso ekvivalentus gramui žaliavos ir apskaičiuojama pagal formulę:

$$TE = \frac{C \cdot V}{m} \quad (2)$$

**ABTS radikalų aktyvumas: pradinio tirpalo paruošimas:** tamsaus stiklo buteliuke 50 ml distiliuoto vandens ištirpinama 0,056 g ABTS (>99 %, Fluka, Vokietija) ultragarso bangas. Į gautą tirpalą įdedama 200 µl 70 nM kalio persulfato (0,1982 g  $K_2S_2O_8$  tirpinama 10 ml distiliuoto vandens). Paruoštas tirpalas gerai sumaišomas ir paliekamas tamsoje 16 valandų.

**Darbinio tirpalo paruošimas:** po 16 valandų pirmis ABTS tirpalas skiedžiamas distiliuotu vandeniu tol, kol nustatoma  $0,700 \pm 0,2$  absorbcijos reikšmė, esant 734 nm bangos ilgiui. Kontrolei naudojama distiliuotas vanduo. Į mėgintuvėlį analizei imama 50 µl tiriamojo ekstrakto ir įpilama 2 ml darbinio ABTS tirpalo, laikoma tamsiai, po 10 min. matuojama absorbcija.

**Standartinio tirpalo paruošimas:** 25 mg trolokso miltelių (97%, Sigma-Aldrich, JAV) ištirpinama 80 % metanolyje (LaboChema, Vilnius) 25 ml kolbutėje. Pirminio tirpalo koncentracija yra lygi 1 mg/ml. Gaminami 5 koncentracijų trolokso tirpalai. Imamas 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml bei 5 ml pirminio trolokso tirpalo ir pilama 80 % (V/V) etanolio iki 10 ml. ABTS kalibracinė kreivė:  $y = 0,2734x + 0,0304$  ( $R^2 = 0,9842$ ).

ABTS radikalų-katijonų surišimo geba išreiškiama standartinio antioksidanto trolokso ekvivalentus gramui žaliavos ir apskaičiuojama pagal (2) formulę.

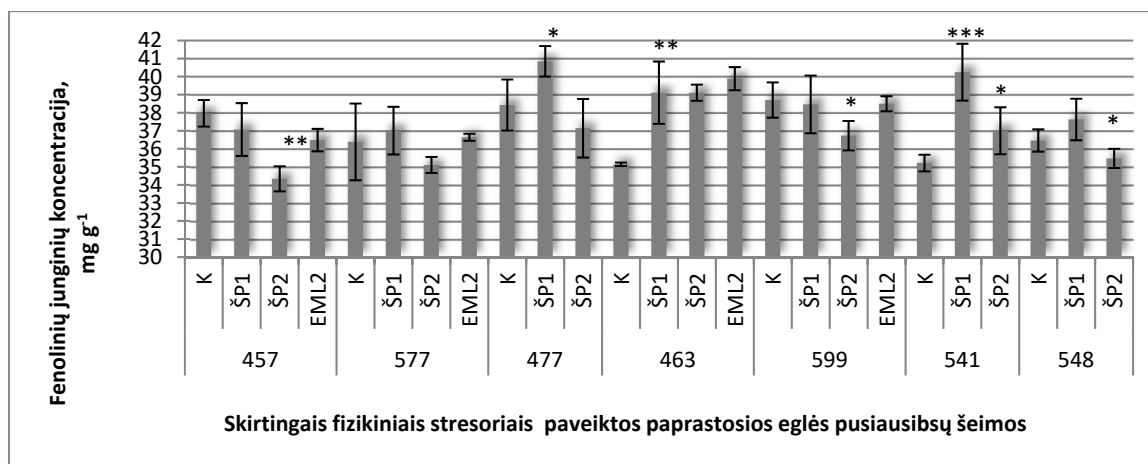
**Statistinis vertinimas:** statistškai apskaičiuoti visų eksperimentų biocheminių junginių (fenolinių junginių, flavonoidų, DPPH ir ABTS radikalinio aktyvumo) kiekiai. Patikimi skirtumai nuo kontrolinio varianto nustatyti pagal Student t-testą, atliktą Microsoft Excel programa.

## Rezultatai ir jų analizė

### Fenolinių junginių koncentracijos kitimas paprastosios eglės spygliuose po fizikinių stresorių poveikio

Remiantis gautais rezultatais ir lyginant fizikinius poveikius su kontrole matoma, kad fenolinių junginių koncentracija reikšmingai pakito lyginant fizikinį poveikį (ŠP1) su kontroliniais variantais (1 paveikslas).

**Rezultatai.** Atlikti tyrimai parodė, kad statistškai patikimas didžiausias fenolinių junginių koncentracijos padidėjimas nuo kontrolės nustatytas 477, 541 ir 463 eglės šeimose po ŠP1 poveikio (atitinkamai  $40,8 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $40,2 \text{ mg g}^{-1}$  ir  $39,1 \text{ mg g}^{-1}$ ). Stipriausiu atsaku ŠP2 ir EML2 atsakui pasižymėjo 457 eglės šeima (atitinkamai  $34,3 \text{ mg g}^{-1}$  ir  $36,4 \text{ mg g}^{-1}$ ).



1 paveikslas. Bendras fenolinių junginių kiekis kontrolinėse ir fizikiniais stresoriais (ŠP1, ŠP2 ir EML2) paveiktose paprastosios eglės šeimose ( $\pm$ SE) ( $n = 9$ ). K – kontrolė, ŠP1 – sėklos apdorotos šaltąja plazma 1 min., ŠP2 – sėklos apdorotos šaltąja plazma 2 min., EML2 – sėklos apdorotos elektromagnetiniu lauku 2 min. Žvaigždutės virš stulpelių parodo poveikio grupės statistinį reikšmingumą lyginant su kontrole ( $p^* < 0,05$ ;  $p^{**} < 0,005$ ;  $p^{***} < 0,001$ )

**Aptarimas:** duomenys parodė, kad fizikiniams stresoriams labiausiai jautrios 463 šeimos eglės, nes jas paveikus visais pasirinktais poveikiais (ŠP1, ŠP2, EML2) pastebėtas teigiamas ryškus skirtumas tarp stresorių, lyginant su kontrole. Statistiškai patikima fenolinių junginių sintezė nustatyta ir 541 šeimos eglės spygliuose po ŠP1. Gauti rezultatai leidžia daryti prielaidą, kad 463 ir 541 šeimų eglė adaptyvumo padidėjimas, suaktyvinus fenolinių junginių sintezę, gali būti naudingas selektyviu požiūriu miškų ūkio praktikoje. ŠP2 turėjo tik nežymų teigiamą arba neigiamą poveikį fenolinių junginių koncentracijos pokyčiams. Fenoliai yra antrinio metabolizmo produktai, kurie augalui labai svarbūs, jie veikia kaip viliojamosios medžiagos, padedant augalui maskuotis ir apsisaugoti nuo žolėdžių, taip pat veikia ir kaip antibakterinis ir priešgrybelinis poveikis (Lind ir kt., 2016). Šių inovatyvių technologijų panaudojimas suteikia galimybę padidinti fenolinių junginių kiekį (t. y. padidinti augalo gyvybingumą ir atsparumą) trijose (477, 463, 541) paprastosios eglės šeimose, taip sudarant sąlygas mažinti aplinką teršiančių priemonių vartojimą ir prisidėti prie sveikesnės aplinkos.

*Flavonoidų koncentracijos kitimas paprastosios eglės spygliuose po fizikinių stresorių poveikio*

Remiantis gautais rezultatais ir lyginant fizikinius poveikius su kontrole matoma, kad flavonoidų koncentracija reikšmingai pakito lyginant fizikinius poveikius su kontroliniais variantais (2 paveikslas).

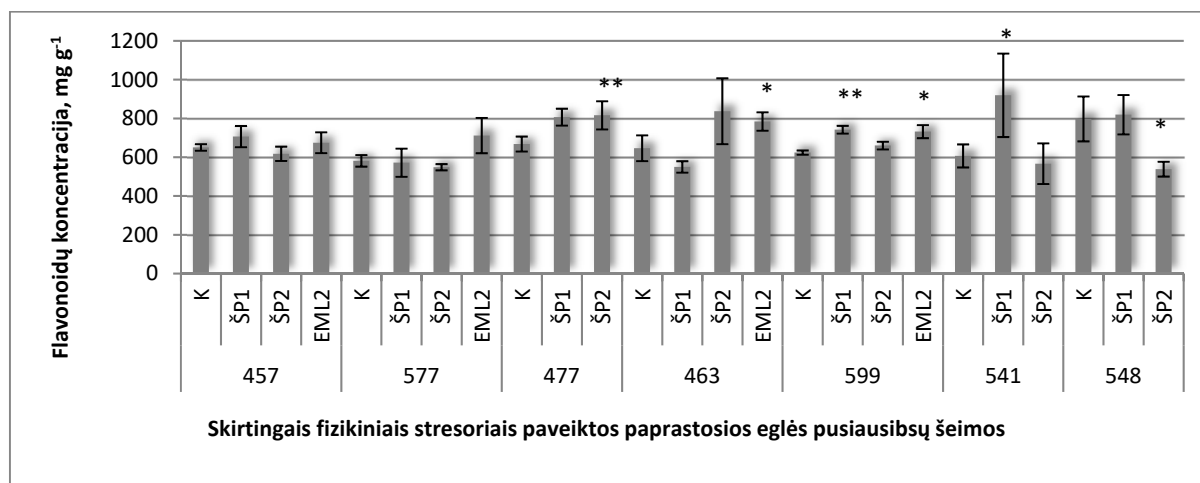
**Rezultatai.** Didžiausias flavonoidų koncentracijos padidėjimas, palyginti t su kontrole, nustatytas 541 eglės šeimoje (padidėjo 312,5 mg g<sup>-1</sup>, po ŠP1 poveikio),

463 šeimoje (padidėjo 190,7 mg g<sup>-1</sup>, po ŠP2 poveikio) ir 477 šeimoje (padidėjo 138,7 mg g<sup>-1</sup>, po ŠP1 poveikio). Taip pat iš visų šeimų 541 mg g<sup>-1</sup>, po ŠP1 poveikio). Taip pat iš visų šeimų 541 eglėse nustatytas didžiausia flavonoidų koncentracija, esant ŠP1 poveikiui (919,2 mg g<sup>-1</sup>). Statistiškai patikimas teigiamas EML2 poveikis flavonoidų koncentracijos kitimui nustatytas 463 ir 599 šeimų eglės spygliuose (atitinkamai nuo kontrolės padidėjo 234,6 mg g<sup>-1</sup> ir 108,1 mg g<sup>-1</sup>).

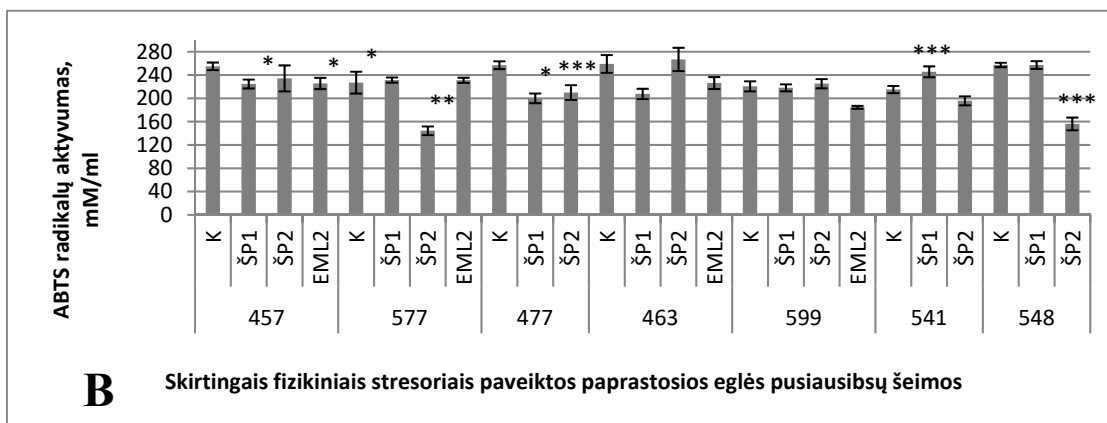
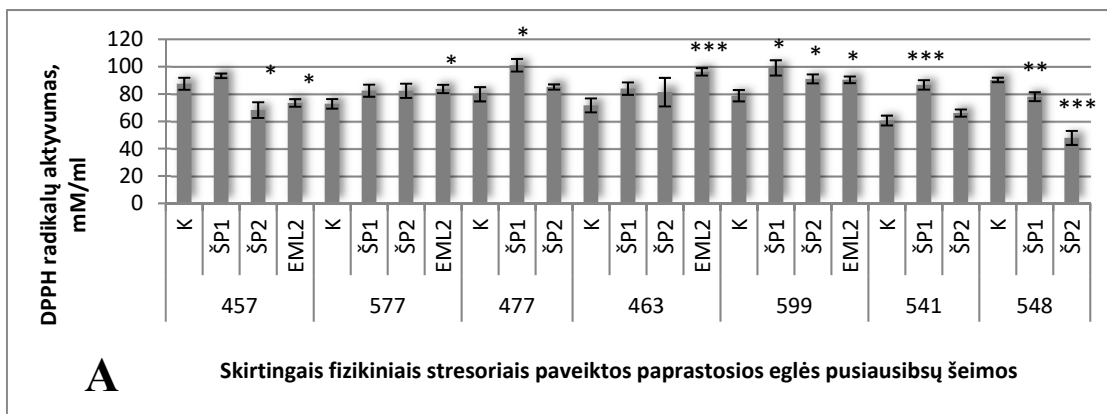
**Aptarimas:** flavonoidų koncentracija itin padidėjo po ŠP1 poveikio 541, 477 ir 599 šeimų eglės spygliuose, tai rodo didesnę šių genetinių šeimų jautrumą pasirinktam stresoriui. Vienas iš naujausių tyrimų parodė, kad flavonoidų aglikonai labiausiai reaguoja į įvairius sukeltus stresus (Meatsamuuronen ir Siren, 2019). Flavonoidai apsaugo augalus nuo biotinių ir abiotinių stresų, veikia kaip unikalūs UV filtrai, signalinės molekulės, alelopatiniai junginiai, detoksikantai bei antimikrobiniai junginiai (Akahashi ir Ohnishi, 2004). Flavonoidai lemia augalo atsparumą šalčiui, sausrui bei gali atlikti svarbų vaidmenį augalų aklimatizacijai (Samanta ir kt., 2011). Dėl stipriausio atsako į naudotus stresorius (ypač ŠP1) tyrimams tikslinga pasirinkti 477 ir 541 šeimos eglės, o ŠP1 galėtų būti naudojama kaip alternatyvi priemonė įvairiems aplinką teršiantiems produktams.

*DPPH ir ABTS radikalų aktyvumo koncentracijos kitimas paprastosios eglės spygliuose po fizikinių stresorių poveikio*

Atlikus poveikių analizę antioksidaciniam aktyvumui sudarytas reikšmingumo tarp poveikių grafikai (3 paveikslas A, B).



2 paveikslas. Bendras flavonoidų kiekis kontrolinėse ir fizikiniais stresoriais (ŠP1, ŠP2 ir EML2) paveiktose paprastosios eglės šeimose (±SE) (n = 9). K – kontrolė, ŠP1 – sėklos apdorotos šaltąja plazma 1 min., ŠP2 – sėklos apdorotos šaltąja plazma 2 min., EML2 – sėklos apdorotos elektromagnetiniu lauku 2 min. Žvaigždutės virš stulpelių parodo poveikio grupės statistinį reikšmingumą lyginant su kontrole (p\* < 0,05; p\*\* < 0,005; p\*\*\* < 0,001)



3 paveikslas. A. Bendras DPPH (A) ir ABTS (B) radikalų aktyvumas kontrolinėse ir fizikiniais stresoriais (ŠP1, ŠP2 ir EML2) paveiktose paprastosios eglės šeimose ( $\pm$ SE) ( $n = 9$ ). K – kontrolė, ŠP1 – sėklos apdorotos šaltąja plazma 1 min., ŠP2 – sėklos apdorotos šaltąja plazma 2 min., EML2 – sėklos apdorotos elektromagnetiniu lauku 2 min. Žvaigždutės virš stulpelių parodo poveikio grupės statistinį reikšmingumą lyginant su kontrole ( $p^* < 0,05$ ;  $p^{**} < 0,005$ ;  $p^{***} < 0,001$ )

**Rezultatai:** didžiausias DPPH antioksidacinis aktyvumas nustatytas tų pačių eglės šeimų spygliuose, kuriose fizikiniai stresoriai lėmė didesnes fenolių ir flavanoidų koncentracijas. Po ŠP1 poveikio didžiausias DPPH antioksidacinis aktyvumas nustatytas 477 ir 541 eglės šeimose (atitinkamai 101 mM/ml ir 86 mM/ml). Po EML2 poveikio – 463 eglės šeimos spygliuose. Po EML2 poveikio fenolinių junginių ir flavanoidų koncentracija šioje šeimoje taip pat nustatyta gerokai didesnė, palyginti su kontrole. Statistiškai patikimas ABTS aktyvumas nustatytas 577 ir 541 šeimose po ŠP1 (atitinkamai 4 mM/ml ir 30 mM/ml).

**Aptarimas:** Šiame tyrime naudojant tiek DPPH, tiek ABTS metodą (esant ŠP1 stresoriui) nustatytas padidėjęs (lyginant su kontrole) antioksidacinis aktyvumas 577 ir 541 šeimose, todėl daroma išvada, kad šios šeimos gali būti naudojama tolimesniems tyrimams dėl savo jautrumo fizikiniams stresoriams ir naudos žmogui – kaip antioksidantų šaltinis.

## Išvados

1. Fenolių ir flavanoidų kiekio analizė parodė, kad ŠP1 turi teigiamos įtakos šių antrinių metabolitų sintezei. 477 ir 541 eglės šeimos labiausiai išsiskyrė teigiamu atsaku į stresorių. Todėl šaltosios plazmos panaudojimas yra kaip alternatyva aplinką teršiantiems cheminiams preparatams.
2. Tyrimo metu taikant DPPH ir ABTS metodus nustatyta, kad ŠP1 naudojimas pastebimai padidino antioksidacinį aktyvumą 541 eglės šeimoje. Tai leistų atsisakyti ne tik aplinką teršiančių cheminių medžiagų, bet ir praturtinti pasirinktus augalus žmogui svarbiais junginiais, pavyzdžiui, padidinti antioksidacinių junginių kiekius.

## Literatūra

Akahashi, A., & Ohnishi, T. (2004). The significance of the study about the biological effects of solar ultraviolet radiation using the exposed facility on the international

- space station. *Biological Sciences in Space*, 18(4), 255–260. <https://doi.org/10.2187/bss.18.255>
- Bourke, P., Ziuzina, D., Boehm, D., Cullen, P. J., & Keeren, K. (2018). The potential of cold plasma for safe and sustainable food production. *Trends in Biotechnology*, 36(6), 615–626. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.11.001>
- Drozd, P., & Pyrzynska, K. (2019). Extracts from pine and oak barks: phenolics, minerals and antioxidant potential. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1668381>
- Gill, H. K., & Garg, H. (2014). Pesticides: Environmental impacts and management strategies. *INTECH*. 188–2010. <https://doi.org/10.5772/57399>
- Lind, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., & Chen, S. (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374. <https://doi.org/10.3390/molecules21101374>
- Maffei, M. E. (2014). Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution. *Frontiers in Plant Science*, 5, 445. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00445>
- Mahmood, I., Imadi, S. R., Shazadi, K., & Gul, A. (2015). Effects of pesticides on environment. In K. Hakeem, M. Akhtar, & S. Abdullah (Eds), *Plant, Soil and Microbes* (Vol. 1, pp. 253–266). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-27455-3\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-27455-3_13)
- Meatsamuuronen, S., & Siren, H. (2019). Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: a review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce. *Phytochem Reviews*, 18, 623–664. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09630-2>
- Pietruszewski, S., & Martinez, E. (2015). Magnetic field as a method of improving the quality of sowing material: a review. *International Agrophysics*, 29, 377–389. <https://doi.org/10.1515/intag-2015-0044>
- Ragaei, S., Abdel-Aal, E. S., & Noaman, M. (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*, 98(1), 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.039>
- Samanta, A., Das, G., & Das, S. (2011). Roles of flavonoids in plants. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical*, 6(1), 12–35.
- Sarinont, T., Amano, T., Attiri, P., Koga, K., Hayashi, N., & Shirtani, M. (2016). Effects of plasma irradiation using various feeding gases on growth of *Raphanus sativus* L. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 60, 129–140. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.03.024>
- Šera, B., & Šery, M. (2018). Non-thermal plasma treatment as a new biotechnology in relation to seeds, dry fruits, and grains. *Plasma Science and Technology*, 20(4), 044012. <https://doi.org/10.1088/2058-6272/aaacc6>
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49–55.
- Tanase, C., Cosarca, S., & Muntean, D. L. (2019). A critical review of phenolic compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential biological activity. *Molecules*, 24(6), 1182. <https://doi.org/10.3390/molecules24061182>
- Thor, W., & Stenlid, J. (2007). Heterobasidion annosum infection of Picea abies following manual or mechanized stump treatment. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 20(2), 154–164. <https://doi.org/10.1080/02827580510008338>

#### VARIATIONS OF BIOCHEMICAL PARAMETERS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN NORWAY SPRUCE (*PICEA ABIES* (L.) H. KARST.) NEEDLES AFTER TREATMENT OF PHYSICAL STRESSORS

I. Lučinskaitė, V. Sirgedaitė-Šėžienė, K. Laužikė, V. Čėsna

#### Summary

In this article physical stressors (cold plasma and electromagnetic field) are discussed as tools that can be alternative from pesticides in farming. Spectrophotometric analysis showed that the highest phenols concentration was found when seeds were treating by cold plasma (1 min.) in needle extracts of half-sib families 577, 477, 463, 541 and 548. In particularly distinguished family 541 which had the higher concentration than control (5.032 mg g<sup>-1</sup> higher). The needle extracts of family 541 had the highest flavonoids concentration, when seeds were treating by cold plasma (1 min.) (918.30 mg g<sup>-1</sup>). Antioxidant activity evaluated for another aim – on purpose physical stressors influence of antioxidant activity concentration that could be use like nature antioxidant sources. Our studies have shown that the positive influence for antioxidant activity (when used ABTS and DPPH method) has families 541 and 577 after cold plasma (1 min.) effect (compare to control concentration increased 4 mM/ml and 30 mM/ml, respectively). Considered this researches we outlined that the highest concentration of phenols, flavonoids and antioxidant activity has family 541 which seeds were treating by cold plasma 1 min.

**Keywords:** cold plasma, environment protection, genetic selection, Norway spruce, physical stressors.