

Г.И. Ширяев, Г.Г. Борисова, М.Г. Малева

Институт естественных наук и математики,
Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,
г. Екатеринбург, schiriae.v.grisha@yandex.ru

ПРОДУКТЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ В ЛИСТЬЯХ ГЕЛОФИТОВ КАК БИОМАРКЕРЫ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ) является распространенной проблемой, особенно актуальной для регионов с развитой промышленностью, таких как Урал. Действие ТМ на живые организмы нередко инициирует развитие окислительного стресса, что может привести к их гибели. Устойчивость растений в таких условиях зависит от адаптивных физиолого-биохимических реакций, связанных с активацией защитных систем организма, включая синтез низкомолекулярных компонентов антиоксидантной природы [Blokhtina et al., 2003; Прадедова и др., 2011]. Исследование проводилось в зоне деятельности медеплавильного комбината АО «Карабашмедь» (г. Карабаш, Челябинская область). Предприятие оказывает сильное техногенное влияние как на наземные, так и на водные экосистемы. Наибольшее воздействие испытывает река Сак-Элга, являющаяся притоком р. Миасс, в которую поступают не только хозяйственно-бытовые воды города, но и стоки комбината. Значительная часть поллютантов поступает также аэротехногенным путем [Таций, 2012]. В конечном счете загрязненные воды поступают в Аргазинское водохранилище, которое используется в качестве источника питьевого водоснабжения.

Цель исследования – выявление наиболее репрезентативных физиолого-биохимических параметров, перспективных для использования в качестве биомаркеров токсичности, на основе изучения аккумулятивной способности и ответных реакций наиболее устойчивых к длительному техногенному воздействию видов гелофитов – *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Typha latifolia* L. и *Calla palustris* L.

Отбор проб вод, седиментов и растительного материала осуществляли на территории Челябинской области в июле 2016–2018 гг. на двух участках: р. Сак-Элга (импакт), на расстоянии 2.6 км от медеплавильного комбината, и о. Иртяш (фон), на расстоянии 55 км от данного предприятия. Содержание ТМ в воде, седиментах и растительном материале определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой после мокрого озонирования 70 % HNO₃ (осч). Физиолого-биохимические характеристики, такие как содержание малонового диальдегида (МДА), каротиноидов, свободного пролина, небелковых тиолов и фенольных соединений, измеряли спектрофотометрически, согласно стандартным методам [Lichtenthaler, 1987; Singleton et al., 1999; Методы..., 2012]. В качестве показателя уровня загрязнения использовали суммарный индекс токсической нагрузки (S_i), рассчитанный по содержанию восьми металлов (Co, Pb, Ni, Cu, Zn, Mn, Cd и Fe) по формуле [Bezel et al., 1998]: $S_i = (1/n) \sum (C_i / C_{фон})$, где C_i – концентрация металла в воде/седиментах загрязненного участка, $C_{фон}$ – концентрация металла в воде/седиментах фонового участка, n – число исследованных металлов.

Исследование показало, что в импактном участке происходило значительное загрязнение как поверхностных вод, так и седиментов (табл.). В наибольшем количестве в поверхностных водах содержались Cu, Zn и Mn, тогда как в седиментах еще и Fe. Для импактного участка были характерны низкое значение pH поверхностных вод и высокая электропроводность, которая была выше в 1.7 раза по сравнению с фоном (см. табл.). Как известно, в кислой среде увеличивается подвижность ТМ, в результате чего повышается их поступление в ткани растений [Li et al., 2015].

Значения индекса токсической нагрузки воды и седиментов, рН и электропроводности воды на исследуемых участках

Точка отбора проб	$Si_{(вод.)}$	$Si_{(сед.)}$	рН	Электропроводность, мкСи/см
Фон	1	1	6.9 ± 0.1	392.7 ± 33.2
Импакт	137	28	5.2 ± 0.2	656.7 ± 20.2

Накопление ТМ осуществлялось в основном корнями исследуемых гелофитов: коэффициент транслокации из корней в листья в большинстве случаев был меньше 1. Исключение составил Mn, который у *P. australis* и *T. latifolia* в максимальной степени накапливался в надземной части растений. Возможно, это связано с высокой подвижностью ионов марганца в растениях, которая была отмечена и другими авторами [Klink et al., 2013].

Образование активных форм кислорода (АФК), стимулируемое действием ТМ, может привести к развитию окислительного стресса, основным показателем которого является накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Одним из продуктов ПОЛ является МДА; по его содержанию принято судить об уровне окислительного стресса [Прадедова и др., 2011]. Несмотря на то, что исследуемые гелофиты депонировали значительные количества ТМ в корнях, было показано увеличение содержания МДА в листьях растений из импактного участка (в среднем в 1.7 раза, рис.). При этом содержание МДА у *C. palustris* было значительно выше, чем у *P. australis* и *T. latifolia* (в 3.3 и 1.9 раза, соответственно).

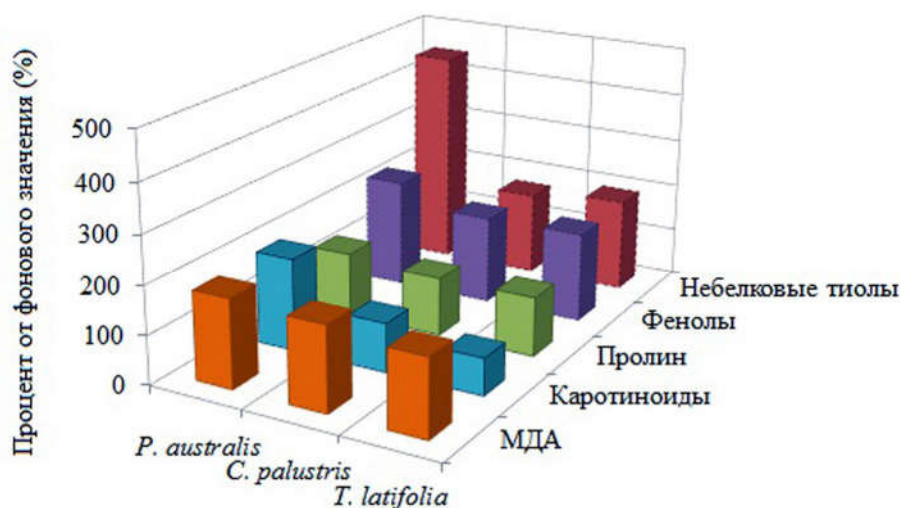


Рис. Содержание малонового диальдегида (МДА) и низкомолекулярных антиоксидантов в листьях трех видов гелофитов в импактном участке. Данные выражены в процентах от фоновых значений (фон = 100 %).

Одним из главных неспецифических ответов на окислительный стресс у растений является активация синтеза низкомолекулярных антиоксидантов. К ним относят вещества различной природы, часто выполняющие в растениях и другие важные функции, помимо антиоксидантной [Blokhnina et al., 2003; Прадедова и др., 2011]. Например, каротиноиды являются не только вспомогательными фотосинтетическими пигментами (антенная функция), но и могут восстанавливать АФК за счет двойных связей, тем самым защищая хлорофиллы от фотоокисления [Gruszecki et al., 2014]. У *P. australis* содержание каротиноидов в листьях увеличилось в 2 раза, тогда как у *T. latifolia* снижалось в 1.3 раза, а у *C. palustris* существенно не изменялось. При этом содержание каротиноидов в фоновом участке у *P. australis* было ниже, чем у других видов (в среднем в 1.7 раза). Возможно, активизация их синтеза в импактном участке у *P. australis* связана с их антиоксидантной ролью.

Особую роль в защите растений от различных стрессовых факторов играет пролин. Он участвует не только в осморегуляции, но и является важным компонентом антиоксидантной системы, хелатируя ТМ и участвуя в нейтрализации АФК [Hare, Cress, 1997]. У всех трех гелофитов в импактном участке количество пролина в листьях увеличивалось в среднем в 1.3 раза. При этом в наибольшем количестве пролин содержался у *P. australis* (0.8 мг/г сухой массы), а в наименьшем – у *C. palustris* (0.4 мг/г сухой массы). Увеличение содержания пролина у растений, испытывающих окислительный стресс, показано многими авторами и является одним из наиболее универсальных ответов растений на окислительный стресс [Nayeka et al., 2010].

Фенольные соединения играют важную роль в нейтрализации АФК и хелатировании ТМ за счет гидроксильных групп, а также стабилизируют мембраны, снижая диффузию свободных радикалов в клетки [Kostyuk et al., 2004]. В импактном участке у исследуемых видов обнаружено достоверное увеличение количества фенольных соединений (в среднем в 2.0 раза). При этом содержание фенольных соединений у *T. latifolia* и *C. palustris* было в 1.5 раза выше, чем у *P. australis* (117.8 мг/г сухой массы). Данный результат согласуется с литературными данными, в которых указывается, что у многих растений, устойчивых к действию стрессовых факторов, наблюдается значительное накопление фенольных соединений [Michalak, 2006].

Известно, что небелковые тиолы (в частности, глутатион) содержат SH-группы, за счет которых могут как непосредственно хелатировать ТМ, ингибируя тем самым синтез АФК, так и участвовать в их нейтрализации [Hernandez et al., 2015]. В импактном участке содержание небелковых растворимых тиолов у *P. australis*, *T. latifolia* и *C. palustris* увеличивалось в 4.5, 1.9 и 1.7 раза соответственно. При этом содержание небелковых тиолов у *P. australis* в импактном участке (0.7 мкм/г сухой массы) было ниже, чем у других гелофитов (в среднем в 1.8 раз).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что у всех изученных гелофитов длительное техногенное воздействие вызывало окислительный стресс. При этом, благодаря активизации синтеза низкомолекулярных антиоксидантов, они сохраняли свою жизнеспособность в экстремальных условиях загрязнения. Исследование показало, что такие параметры, как содержание МДА, пролина, небелковых тиолов и фенольных соединений, можно рекомендовать в качестве биомаркеров токсической нагрузки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 02.А03.21.0006).

Литература

Методы оценки антиоксидантного статуса растений: уч.-метод. пособие. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 72 с.

Прадедова Е.В., Ищеева О.Д., Салеев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. 2011. Т. 58. № 2. С. 177–185.

Тацкий Ю.Г. Эколого-геохимическая оценка загрязнения окружающей среды в зоне действия Карабашского медеплавильного комбината // Вестник ТюмГУ. Экология и природопользование. 2012. № 12. С. 90–96.

Bezel V.S., Zhuikova T.V., Pozolotina V.N. The structure of dandelion cenopopulations and specific features of heavy metal accumulation // Russian Journal of Ecology. 1998. V. 29. No 5. P. 331–337.

Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review // Annals of Botany. 2003. V. 91. No 2. P. 179–194.

Gruszecki W., Szymanska R., Fiedor L. Carotenoids as photoprotectors // In: Photosynthetic pigments: chemical structure, biological function and ecology. Ed. by T.K. Golovko, W.I. Gruszecki, M.N.V. Prasad, K.J. Strzalka. Syktyvkar, 2014. P. 161–170.

Hare P.D., Cress W.A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulations in plants // Plant Growth Regulations. 1997. No 21. P. 79–102.

Hernandez L.E., Sobrino-Plata J., Montero-Palmero M.B., Carrasco-Gil S., Flores-Caceres M.L., Ortega-Villasante C., Escobar C. Contribution of glutathione to the control of cellular redox homeostasis under toxic metal and metalloids stress // *Journal of Experimental Botany*. 2015. V. 66. No 10. P. 2901–2911.

Klink A., Macioł A., Wisłocka M., Krawczyk J. Metal accumulation and distribution in the organs of *Typha latifolia* L. (cattail) and their potential use in bioindication // *Limnologica*. 2013. V. 43. No 3. P. 164–168.

Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Strigunova E.N., Kostyuk T.V., Afanas'ev I.B. Experimental evidence that flavonoid metal complexes may act as mimics of superoxide dismutase // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2004. V. 428. No 2. P. 204–208.

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes // *Methods in Enzymology*. 1987. V. 148. P. 350–382.

Li J., Yu H., Luan Y. Meta-analysis of the copper, zinc, and cadmium absorption capacities of aquatic plants in heavy metal-polluted water // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2015. V. 12. No 12. P. 14958–14973.

Michalak A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress // *Polish Journal of Environmental Studies*. 2006. V. 15. P. 523–530.

Nayeka S., Gupta S., Saha R. Effects of metal stress on biochemical response of some aquatic macrophytes growing along an industrial waste discharge channel // *Journal of Plant Interactions*. 2010. V. 5. No 2. P. 91–99.

Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent // *Methods in Enzymology*. 1999. V. 299. P. 152–178.