

# ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В ЛИСТЬЯХ БЕЛОКРЫЛЬНИКА БОЛОТНОГО В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

М.Г. Малева, Г.Г. Борисова, Г.И. Ширяев, П.Ю. Лукина

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия, [maria.maleva@mail.ru](mailto:maria.maleva@mail.ru)

**Аннотация.** Представлены данные об аккумуляции металлов и содержании низкомолекулярных антиоксидантов в листьях *Calla palustris* L. в зоне деятельности Карабашского медеплавильного комбината (г. Карабаш, Челябинская область). Показано, что длительное техногенное воздействие приводит к развитию хронического окислительного стресса и увеличению содержания фенольных и тиолсодержащих соединений в листьях *C. palustris*, в то время как достоверного изменения уровня каротиноидов и пролина не выявлено.

**Ключевые слова:** гелофит, тяжелые металлы, аккумуляция, окислительный стресс, антиоксидантная система

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-1079-1083

В последние десятилетия все большее внимание исследователей привлекает проблема окислительного стресса, возникающего при нарушении баланса между антиоксидантами и прооксидантами. Универсальная классификация компонентов антиоксидантной системы отсутствует, однако широкое распространение получило деление антиоксидантов на две группы на основании их молекулярных масс: высокомолекулярные и низкомолекулярные соединения [Прадедова и др., 2011].

Цель исследования – оценка аккумулятивного потенциала, интенсивности пероксидации липидов и содержания некоторых низкомолекулярных антиоксидантов в листьях белокрыльника болотного из природных местообитаний с разной степенью техногенной нагрузки.

Белокрыльник болотный (*Calla palustris* L.), семейство Araceae (ароидные) – широко распространенный голарктический бореальный вид, относится к гелофитам.

Исследования проводили в пойме реки Сак-Элга, протекающей через город Карабаш, Челябинская область. На протяжении многих десятков лет территория этого города испытывает мощное техногенное воздействие от деятельности Карабашского медеплавильного комбината ЗАО «Карабашмедь» (КМК). Территория, примыкающая к КМК, объявлена зоной экологического бедствия. Река Сак-Элга в нижнем течении сильно загрязнена из-за поступления шахтных вод с низким значением pH, ливневых стоков с производственных площадок КМК и шламонакопителей, а также хозяйственно-бытовых сточных вод города [Yurkevich et al., 2015].

Пробы воды, седиментов и растительный материал собирали в июле 2016 и 2017 гг. (в фазе цветения растений) на двух участках, различающихся степенью техногенной нагрузки: фоновом (верховье р. Сак-Элга, 3 км выше КМК; 55.4466°N, 60.1685°E) и импактном (р. Сак-Элга, 2,6 км ниже КМК; 55.4456°N, 60.2256°E).

Величину pH и электропроводности воды измеряли с помощью портативного pH-метра/кондуктометра (“Hanna Instruments”, Германия). Определение содержания тяжелых металлов (ТМ) в воде, седиментах, корнях и листьях *C. palustris* проводили с помощью атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивной связанной плазмой iCAP 6500 Duo (“Thermo Scientific”, США) после мокрого озоления 70% HNO<sub>3</sub> (осч.). В качестве интегрального показателя загрязнения использовали суммарный индекс токсической нагрузки, который рассчитывали, как:  $S_i = (1/n) \sum (S_{\text{имп.}}/S_{\text{фон}})_i$ , где  $S_{\text{имп.}}$  –

концентрация  $i$ -ого металла в воде или седиментах импактного участка,  $S_{\text{фон}}$  – концентрация  $i$ -ого металла в фоновом участке,  $n$  – число металлов [Безель и др., 1998]. Коэффициент транслокации ТМ из корней в листья определяли как отношение содержания исследуемого металла в листьях к его содержанию в корнях.

Измерение количества продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в листьях *C. palustris* проводили спектрофотометрически (“APEL” PD-303UV) по изменению содержания малонового диальдегида (МДА) [Методы оценки ..., 2012].

Содержание каротиноидов определяли спектрофотометрически в 80 % ацетоновом экстракте [Lichtenthaler, 1987]. Определение содержания пролина проводили по модифицированной методике Бэйтса [Методы оценки ..., 2012]. Общее содержание фенольных соединений в листьях белокрыльника определяли спектрофотометрически при длине волны 725 нм с реактивом Фолина–Чокальтеу, используя в качестве стандарта галловую кислоту [Singleton et al., 1999]. Определение содержания флавоноидов проводили спектрофотометрически при длине волны 420 нм с использованием лимоннокислого борного реактива [Методы оценки ..., 2012]. Содержание растворимых небелковых тиолов определяли спектрофотометрически при длине волны 412 нм после реакции с реактивом Элмана, согласно [Методы оценки ..., 2012], используя в качестве стандарта восстановленный глутатион.

Физиолого-биохимические характеристики определяли в трех биологических повторностях. Для оценки достоверности различий использовали непараметрический критерий Манна–Уитни при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Длительное техногенное воздействие привело к значительному снижению pH воды в реке Сак-Элга ниже по течению от медеплавильного комбината – с 6,8 до 5,4 и возрастанию электропроводности в 5 раз.

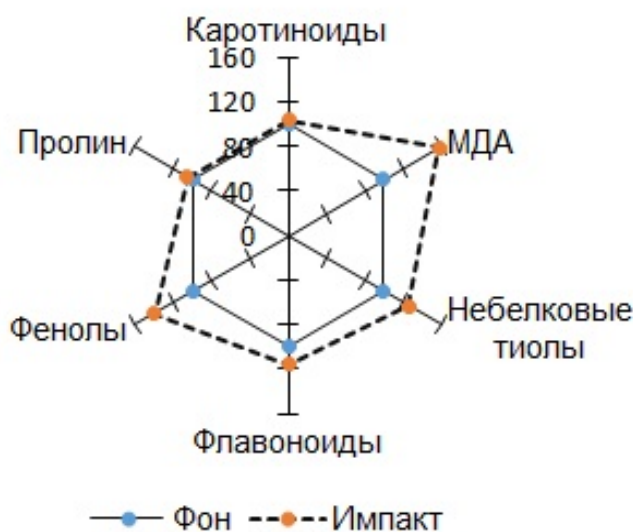
Содержание ТМ в воде импактного участка в десятки раз превышало фоновые значения. Например, концентрация Hg в воде р. Сак-Элга ниже по течению от КМК была в 137, Zn – в 111, Mn – в 75, а Cd – в 65 раз больше по сравнению с фоновым участком. В седиментах импактного участка содержание ТМ было также значительно выше, чем в фоновом: Zn – в 77 раз, Cu – в 17, Cd – в 11, а Ni, Pb, Fe, Hg – в среднем в 6 раз. Величина  $S_i$ , рассчитанная по 10 проанализированным ТМ, составила в импактном участке 41 для воды и 16 для седиментов. Соответственно, содержание ТМ в листьях и корнях белокрыльника из импактного участка существенно превышало их количество в растениях из фонового. Например, содержание Sr в листьях было больше в 5,4 раза, Cu – в 2,0 раза, Pb – в 1,8 раза, Zn, Mg и Mn – в 1,6 раз, Cd и Hg – в 1,4 раза. В корнях *C. palustris* из импактного участка количество цинка было в 37, кадмия – в 34, меди – в 18 раз, свинца и никеля – в 2 раза выше по сравнению с фоновым.

Содержание всех изученных ТМ, за исключением Hg, в корнях растений импактного участка было существенно выше, чем в листьях: Cd – в 42 раза; Fe – в 35 раз, Cu – в 30, Zn – в 24 раза. По другим металлам кратность превышения варьировала от 2 до 7. Соответственно коэффициенты транслокации из корней в листья по всем изученным металлам, кроме Hg, были менее 1 и составляли следующий ряд:  $\text{Sr} > \text{Pb} > \text{Ni} > \text{Mg} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Fe} > \text{Cd}$ .

Несмотря то, что корневая система белокрыльника демонстрировала достаточно высокую депонирующую емкость в отношении металлов, их повышенное содержание в листьях приводило к развитию окислительного стресса. Содержание МДА в листьях белокрыльника из импактного участка было достоверно (в 1,6 раза) выше по сравнению с фоновым (рисунок). Известно, что ПОЛ является индикаторной реакцией повреждения клеточных мембран. В неблагоприятных условиях происходит накопление активных форм кислорода (АФК), что приводит к увеличению

интенсивности процессов окисления липидов и других жизненно важных соединений [Прадедова и др., 2011].

Основной неспецифической реакцией на окислительный стресс при действии различных поллютантов является активация компонентов антиоксидантной системы, включая низкомолекулярные антиокислители [Michalak, 2006]. Как известно, низкомолекулярные вещества с антиоксидантными свойствами выполняют ряд других функций, поэтому изменение их содержания не всегда связано с окислительным стрессом. Тем не менее, представляется целесообразным оценить активность низкомолекулярных антиоксидантов белокрыльника в условиях длительного техногенного воздействия (на примере таких компонентов как каротиноиды, пролин, фенольные соединения и небелковые тиолы).



**Рисунок.** Содержание МДА и некоторых низкомолекулярных антиоксидантов в листьях белокрыльника болотного из р. Сак-Элга (фоновый и импактный участки). Данные представлены в процентах от фоновых значений (фон – 100%).

Каротиноиды не только принимают участие в поглощении квантов света, но и обладают антиоксидантной способностью. Молекулы каротиноидов, имеющие двойные связи, легко окисляются, конкурируя за АФК с другими биомолекулами, тем самым защищая последние от окисления [Прадедова и др., 2011]. В связи с этим проявление антиоксидантных свойств каротиноидов нередко сопровождается их окислительной деструкцией. Однако достоверного изменения количества каротиноидов у *C. palustris* в условиях длительного техногенного загрязнения не было выявлено (рисунок), что свидетельствует о сбалансированности процессов их синтеза и окисления.

Особую роль в защитно-приспособительных реакциях растений играет гетероциклическая аминокислота пролин. Известно, что свободный пролин при стрессе обладает полифункциональным биологическим эффектом, который проявляется не только в осморегуляторной и протекторной функциях, но также и в антиоксидантной [Кузнецов и Шевякова, 1999]. Имеются данные о повышенной аккумуляции пролина в клетках растений в условиях стресса вследствие активизации процессов его синтеза и уменьшения окисления [Hare and Cress, 1997]. Однако содержание свободного пролина в листьях белокрыльника в фоновом и импактном участках было примерно одинаковым: достоверных различий не выявлено.

Важнейшими водорастворимыми антиоксидантами являются природные фенольные соединения: полифенолы, фенилпропаноиды, а также флавоноиды, которые

составляют наиболее многочисленную группу эндогенных фенолов [Michalak, 2006]. Многие фенольные соединения хорошо связывают ионы ТМ и образуют с ними комплексы, предупреждая образование АФК. Они также способны отдавать атом водорода из ОН-группы ароматического кольца для тушения и ликвидации свободных радикалов, окисляющих липиды и другие биомолекулы [Прадедова и др., 2011].

Общее количество фенольных соединений в листьях белокрыльника в импактном участке возросло в 1,4 раза. Содержание флавоноидов у растений, произрастающих ниже по течению от комбината, также увеличивалось, но в меньшей степени (на 15%), рисунок. При этом доля флавоноидов от общего количества эндогенных фенолов уменьшалась с 48% до 40%. Как правило, в растениях, способных адаптироваться к действию стрессоров, наблюдается более значительное накопление флавоноидов по сравнению с растениями со слабой адаптивной реакцией [Michalak, 2006].

К настоящему времени доказана способность растений синтезировать металлсвязывающие тиолсодержащие соединения в ответ на действие ТМ [Borisova et al., 2016]. Исследования показали, что содержание небелковых растворимых тиолов в листьях *C. palustris* в импактном участке возросло на 26% по сравнению с фоновым (рисунок). Соединения, обогащенные –SH-группами, способны хелатировать ионы металлов и, следовательно, предотвращать образование АФК. Кроме того, они могут непосредственно обезвреживать свободные радикалы [Прадедова и др., 2011].

Таким образом, длительное техногенное воздействие приводило к развитию хронического окислительного стресса в листьях белокрыльника болотного. Несмотря на это, благодаря активизации таких компонентов системы антиоксидантной защиты как фенольные и тиолсодержащие соединения, растения данного вида продемонстрировали достаточно высокую жизнеспособность и адаптацию к экстремальным условиям техногенно нарушенного местообитания.

*Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации, соглашение № 02.А03.21.0006.*

#### Литература

Безель В.С., Жуйкова Т.В., Позолотина В.Н. Структура ценопопуляций одуванчика и специфика накопления тяжелых металлов // Экология. – 1998. – № 5. – С. 376–382.

Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Проллин при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 305–320.

Методы оценки антиоксидантного статуса растений: учеб.-метод. пособие / Г.Г. Борисова и др.; отв. ред. Н.В. Чукина. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. – 72 с.

Прадедова Е.В., Ищеева О.Д., Саляев 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.

Borisova G.G., Chukina N.V., Maleva M.G., Kumar A., Prasad M.N.V. Thiols as biomarkers of heavy metal tolerance in the aquatic macrophytes of Middle Urals, Russia // International Journal of Phytoremediation. – 2016. – V. 18, No. 10. – P. 1037–1045.

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

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

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.

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.

Yurkevich N.V., Saeva O.P., Karin Y.G. Geochemical anomalies in two sulfide-bearing waste disposal areas: Fe, Cu, Zn, Cd, Pb, and As in contaminated waters and snow, Kemerovo and Chelyabinsk regions, Russia // *Toxicological and Environmental Chemistry*. – 2015. – V. 97, No. 1. – P. 76–89.

## **CHANGES OF LOW-MOLECULAR WEIGHT ANTIOXIDANT CONTENT IN *CALLA PALUSTRIS* LEAVES UNDER TECHNOGENIC POLLUTION**

M.G. Maleva, G.G. Borisova, G.I. Shiryaev, P.Yu. Lukina

Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia, *maria.maleva@mail.ru*

**Abstract.** The data on the metal accumulation and the low-molecular weight antioxidant content in the leaves of *Calla palustris* L. growing on copper smelter influenced territory (Karabash city, Chelyabinsk region) are statistically presented. It was found that prolonged technogenic impact caused the development of chronic oxidative stress and an increase in the content of phenolic and thiol-containing compounds, while no significant changes were observed in the level of carotenoids and proline.

**Keywords:** *helophyte, heavy metals, accumulation, oxidative stress, antioxidant system*