
ИЗУЧЕНИЕ И РЕАБИЛИТАЦИЯ ЭКОСИСТЕМ

THE STUDY AND REHABILITATION OF ECOSYSTEMS

УДК 581.1:574.2

АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС РАСТЕНИЙ КАК ИНСТРУМЕНТ ИССЛЕДОВАНИЯ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТРОПОГЕННУМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

Н. В. ГОНЧАРОВА¹⁾, Ю. В. ЖИЛЬЦОВА¹⁾, В. Ф. КОВАЛЁВ¹⁾, С. С. ПОЗНЯК¹⁾

*¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, Минск, Беларусь*

Представлены результаты пятилетнего цикла исследований, позволивших оценить антропогенную нагрузку в наземной и водной экосистемах по изменению показателя антиоксидантного статуса, произрастающих в них растений и провести сравнительный анализ их устойчивости к неорганическим поллютантам и радионуклидам. Выявлена значимость низкомолекулярных и высокомолекулярных компонентов системы антиоксидантной защиты при формировании устойчивости растений к антропогенному стрессу, разработаны методические рекомендации по использованию параметров антиоксидантной системы для комплексной диагностики устойчивости растений к антропогенному воздействию.

Образец цитирования:

Гончарова Н. В., Жильцова Ю. В., Ковалёв В. Ф., Позняк С. С. Антиоксидантный статус растений как инструмент исследования их устойчивости к антропогенному воздействию // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 3. С. 21–33.

For citation:

Goncharova N. V., Zhiltsova Yu. V., Kavaliou V. F., Pazniak S. S. Plants antioxidant status as a tool for studying it resistance to anthropogenic impact. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 3. P. 21–33 (in Russ.).

Авторы:

Надежда Вячеславовна Гончарова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры экологического мониторинга и менеджмента.

Жильцова Юлия Валентиновна – кандидат биологических наук, научный сотрудник научно-исследовательского сектора.

Ковалёв Валерий Федорович – младший научный сотрудник научно-исследовательского сектора.

Позняк Сергей Степанович – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заместитель директора по научной работе.

Authors:

Nadezhda V. Goncharova, PhD (biology), associate professor; associate professor of the department of environmental monitoring and management.

goncharova@iseu.by

Yulia V. Zhiltsova, PDh (biology), researcher of the research sector.

zhiltsova@mail.ru

Valery F. Kavaliou, junior researcher of the research sector.

letuciennik@gmail.com

Sergey S. Pazniak, doctor of science (agriculture), professor; deputy director for research.

pazniak@iseu.by

Ключевые слова: устойчивость растений; тяжелые металлы; радионуклиды; окислительный стресс; антиоксидантный статус; перекисное окисление липидов; малоновый диальдегид.

PLANTS ANTIOXIDANT STATUS AS A TOOL FOR STUDYING IT RESISTANCE TO ANTHROPOGENIC IMPACT

N. V. GONCHAROVA^A, Yu. V. ZHILTSOVA^A, V. F. KOVALIOU^A, S. S. PAZNIAK^A

^ABelarusian State University, International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus

Corresponding author: N. V. Goncharova (goncharova@iseu.by)

The article presents the results of a five-year research cycle that made it possible to assess the antioxidant status of plants of different ecosystems with different anthropogenic loads, to conduct a comparative analysis of their resistance to inorganic pollutants and radionuclides. The importance of low-molecular and high-molecular components of the antioxidant protection system in the formation of plant resistance to anthropogenic stress was revealed; methodical recommendations on the use of parameters of the antioxidant system for the complex diagnosis of plant resistance to anthropogenic effects were developed.

Key words: plant resistance; heavy metals; radionuclides; oxidative stress; antioxidant status; lipid peroxidation; malonic dialdehyde.

Введение

Одним из подходов в оценке состояния объектов окружающей среды является выявление изменений в функционировании системы антиоксидантной защиты растений. При неблагоприятных факторах среды наблюдаемое в растениях увеличение интенсивности процессов перекисного окисления липидов и роста концентрации малонового диальдегида (КМД) сопровождается повышением содержания биомолекул, обладающих антиоксидантной активностью (АОА). Величина соотношения АОА/КМД характеризует антиоксидантно-прооксидантное равновесие в клетках и может быть одним из показателей адаптационного процесса. Стабильность или увеличение показателя АОА/КМД свидетельствует об успешной адаптации растений [1]; его снижение сигнализирует о том, что изменения, происходящие в структуре и свойствах биологических мембран, могут привести к развитию патологий [2].

Исследования функциональной активности системы антиоксидантной защиты позволяют определить состояние объектов экосистемы до появления видимых повреждений биоты. Несмотря на перспективность оценки состояния экосистем с использованием показателей антиоксидантной защиты растений, в Республике Беларусь комплексным исследованиям в этом направлении не уделялось должного внимания. Изучение изменений функционирования системы антиоксидантной защиты растений в зависимости от условий произрастания и уровня техногенной нагрузки чрезвычайно актуально для определения состояния экосистемы до появления видимых повреждений биоты. Авторами публикации проведены многолетние лабораторные и полевые исследования, позволившие показать определяющую роль антиоксидантного статуса растений в формировании стрессоустойчивости различных фитоценозов в условиях изменяющейся антропогенной нагрузки [3–6].

Цель исследования – выявить возможность использования высших растений различных экосистем в качестве индикаторов антропогенной нагрузки на основании показателей функциональной активности системы антиоксидантной защиты; провести сравнительный анализ устойчивости растений к неорганическим поллютантам и радионуклидам.

Материалы и методы исследования

При изучении антропогенного воздействия города на элементный состав и биохимические показатели растений определены экспериментальные участки для отбора проб на водоемах и водотоках г. Минска и его окрестностей. К ним относятся экспериментальный участок «р. Свислочь ниже г. Заславля» и «Цнянское водохранилище», которые подвержены наименьшей антропогенной нагрузке, «Комсомольское озеро» и «Чижовское водохранилище», расположенные в черте крупного города, «р. Свислочь – д. Королищевичи», размещенный на 10 км ниже г. Минска.

Содержание химических элементов Fe, Mn, Zn, Ti, Cu, Cr, Pb, Ni в макрофитах и грунте определяли методом рентгено-флуоресцентного анализа на спектрометре энергий рентгеновского излучения CEP-01 (ElvaX, Украина) [7].

Антиоксидантную активность макрофитов определяли фотохемилюминесцентным методом на анализаторе антиоксидантов и свободных радикалов Photochem (Analytik Jena, Германия)) [8].

Интенсивность процесса перекисного окисления липидов в растениях регистрировали на спектрофотометре UV-2501 PC (Shimadzu, Япония) при $\lambda = 532$ нм и $\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ по содержанию малонового диальдегида [9].

Для оценки действия оксидного стресса и прогнозирования устойчивости агроценозов проведены три серии экспериментов (лабораторные и полевые) по изучению влияния абиотических (ионы Cd) и биотических (температура, влажность) на структурно-функциональное состояние липидных компонентов фотосинтетических мембран некоторых сельскохозяйственных растений.

В первой серии опытов объектом исследования стали растения клевера лугового, выращенного в водной культуре в лабораторных условиях.

Цель второй серии опытов – исследование перекисного гомеостаза мембран хлоропластов при высокотемпературном стрессе: более мягкое воздействие (38°C) и более жесткое (45°C).

Третья серия опытов – полевые эксперименты на полях ОАО «Октябрьская революция» д. Гритчино, Дзержинского р-на Минской обл., цель которых – исследование состава мембранных липидов, определение содержания хлорофиллов и каротиноидов на стадии полных всходов в листьях ячменя и кукурузы в условиях агроценоза в зависимости от времени суток (температуры и влажности) [10].

В пятилетнем эксперименте изучена реакция пигментной и антиоксидантной систем хвои сосны обыкновенной, произрастающей в Наровлянском и Ветковском лесхозах Гомельской обл.) [11]. Район исследования: 10 постоянных экспериментальных участков на территории Ветковского и 5 площадок Наровлянского лесхозов. Сбор материала (кора, хвоя, листья) проводился в течение вегетационного периода (июнь-июль) 2011–2015 гг. Подготовка проб к измерениям и измерение активности цезия-137 осуществляли в соответствии с «Методикой радиационного мониторинга в лесах» (Приказ Минлесхоза от 24.05.2006 г. № 113; Реестр нормативных документов Минлесхоза 23.05.2006 № 000065). Для измерения удельной активности цезия-137 в опытных образцах использовали гамма-радиометр РКГ-АТ1320В [12].

Количественное определение хлорофилла *a* и *b*, каротиноидов было проведено спектрофотометрически без предварительного разделения в 100 %-ной ацетоновой вытяжке с последующим расчетом по формуле Хольма–Веттштейна [13]. Массовую концентрацию антиоксидантов (АОА) в исследуемых образцах, эквивалентную кверцетину, определяли амперометрическим методом по методике Я. И. Яшина [14].

Полученные данные обработаны статистически и представлены в виде средних арифметических значений и их стандартных ошибок. Статистическая значимость различий между вариантами определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента ($p < 0,05$). Корреляционный анализ проводили с помощью критерия Пирсона. Статистическая обработка результатов и построение графиков выполнены в программе StatSoft STATISTICA 8.0 и MS Excel 2003.

Результаты исследования и их обсуждение

Ранее проведенные исследования показали, что адаптивные возможности растений определяются как их видовой спецификой, так и соответствующими условиями среды. Исследованные наземные и водные местообитания характеризуются многокомпонентным характером загрязнения. Высокий уровень загрязнения сформировался постепенно, в течение последних десятилетий. Повышенные концентрации поллютантов влияют на структуру и функционирование растительных популяций. Соответственно, ответные реакции растений являются сложными и неоднозначными, а характер их отклика на воздействие зависит от многих факторов.

Анализ результатов по оценке антиоксидантного статуса водных растений, собранных из местообитаний с разной антропогенной нагрузкой, свидетельствует об ответных реакциях на стресс. В большинстве случаев возрастание антропогенной нагрузки приводит к усилению перекисного окисления липидов. Однако степень ПОЛ выражена неодинаково в зависимости от активации антиоксидантных систем клетки под воздействием стрессоров. В среднем количество продуктов ПОЛ у растений из импактной зоны (загрязненного водоема) возрастает в 1,5–2,0 раза по сравнению с фоновым (контрольным).

В табл. 1 представлены значения индикационных показателей в зависимости от степени загрязненности водного объекта.

Таблица 1

Шкала оценки экологического состояния водного объекта
с использованием параметров системы антиоксидантной защиты растений-индикаторов

Table 1

A scale for assessing the ecological status of a water body using the parameters of the plant's antioxidant protection system

Состояние водного объекта	Значение ИСТМ	Вид-индикатор	Значения индикационных показателей
Чистое или слабо загрязненное	0,50–10,00	<i>Spirodela polyrrhiza</i>	$73,3 \leq \text{АОАв} \leq 278,6$ $1,2 \leq \text{АОАв/КМД} \leq 1,7$
Чистое, слабо или умеренно загрязненное	0,50–15,00	<i>Elodea canadensis</i>	$1,1 \leq \text{АОАж/КМД} \leq 1,6$
	0,10–3,00	<i>Phragmites australis</i>	$63,8 \leq \text{АОАв} \leq 158,0$ $2,0 \leq \text{АОАж/КМД} \leq 4,4$ $3,4 \leq \text{АОАв/КМД} \leq 7,8$
	0,50–15,00	<i>Lemna minor</i>	$61,6 \leq \text{АОАж} \leq 238,7$ $42,4 \leq \text{АОАв} \leq 161,5$ $0,5 \leq \text{АОАв/КМД} \leq 0,9$
Слабо или умеренно загрязненное	5,01–15,00	<i>Spirodela polyrrhiza</i>	$128,0 \leq \text{АОАж} \leq 165,0$
	5,01–15,00	<i>Ceratophyllum demersum</i>	$81,1 \leq \text{АОАж} \leq 100,4$ $1,4 \leq \text{АОАж/КМД} \leq 3,5$
Сильно загрязненное	более 15,01	<i>Spirodela polyrrhiza</i>	$\text{АОАв} \leq 13,9$ $\text{АОАв/КМД} \leq 0,4$
	более 15,01	<i>Lemna minor</i>	$\text{АОАв} \leq 6,0$ $\text{КМД} \geq 115,0$
	более 3,01	<i>Phragmites australis</i>	$0,6 \leq \text{АОАв/КМД} \leq 1,2$

Исследованные виды макрофитов по среднему значению антиоксидантной активности (мкмоль/г) располагаются в следующем убывающем порядке:

- по содержанию жирорастворимых компонентов: *Lemna minor* L. (97,8) > *Spirodela polyrrhiza* L. Schleid. (54,8) > *Acorus calamus* L. (52,0) > *Ceratophyllum demersum* L. (41,1) > *Elodea canadensis* Michx. (33,8) > *Phragmites australis* Cav. Trin. ex Steud. (26,0) > *Staurogeton trisulcus* L. Schur (20,5) > *Stratiotes aloides* L. (7,9);

- по содержанию водорастворимых компонентов: *Acorus calamus* L. (135,3) > *Spirodela polyrrhiza* L. Schleid. (71,4) > *Stratiotes aloides* L. (69,5) > *Phragmites australis* Cav. Trin. ex Steud. (58,4) > *Lemna minor* L. (49,7) > *Ceratophyllum demersum* L. (25,4) > *Staurogeton trisulcus* L. Schur (19,3) > *Elodea canadensis* Michx. (11,9).

Исследованные виды макрофитов принадлежат к пяти семействам. Наблюдается уменьшение антиоксидантной активности жирорастворимых экстрактов в следующем ряду: *Lemnoideae* (57,7) > *Araceae* (52,0) > *Ceratophyllaceae* S.F. Gray (41,1) > *Poaceae* Bamhart. (26,0) > *Hydrocharitaceae* Juss. (20,8). Для водорастворимых экстрактов ряд следующий: *Araceae* (135,3) > *Poaceae* Bamhart. (58,4) > *Lemnoideae* (46,8) > *Hydrocharitaceae* Juss. (40,7) > *Ceratophyllaceae* S. F. Gray (25,4).

На основании полученных данных были рассчитаны коэффициенты корреляционной зависимости между содержанием химических элементов в растениях и показателями антиоксидантной активности. Установлена высокая отрицательная корреляционная связь между содержанием меди в *Spirodela polyrrhiza* L. Schleid. и антиоксидантной активностью жирорастворимых экстрактов растения (АОАж) (-0,93), а также между содержанием меди и антиоксидантной активностью водорастворимых экстрактов (АОАв) (-0,73). Установлена отрицательная корреляционная зависимость средней силы между содержанием цинка в *Spirodela polyrrhiza* L. Schleid. и АОАж (-0,58). Коэффициент корреляции между АОАж и АОАв равен 0,53. Для *Lemna minor* L. наблюдалась корреляционная зависимость средней силы между содержанием цинка и АОАв и АОАж (-0,56 и -0,49 соответственно), марганцем и АОАв (-0,53), а также высокая отрицательная зависимость между содержанием железа и АОАж (-0,70), железа и АОАв (-0,77), АОАж и АОАв (0,79) [15].

В лабораторных экспериментах по изучению временной динамики Cd-индуцированного развития окислительного стресса и сопутствующего функционирования ферментативной составляющей ликвидации пероксида водорода (аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы) в органах клевера лугового

установлено, что изменения в антиоксидантной системе клевера лугового под действием 0,04 мМ Cd^{2+} носили органо-специфичный характер: в вегетативной массе количество H_2O_2 существенно возрастало и достигало максимального значения (39 мкмоль/г сырой массы) уже к концу 1-х суток экспозиции на Cd-содержащей среде, после чего оно несколько снижалось к 48 ч (до 32 мкмоль/г сырой массы) и оставалось примерно на одном уровне до конца эксперимента (рис. 1).

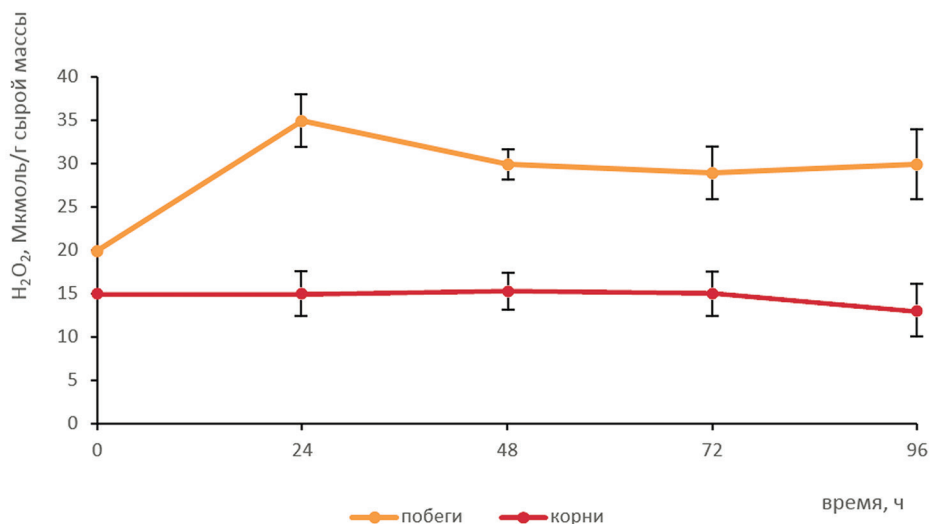


Рис. 1. Влияние ионов кадмия на динамику образования H_2O_2 в органах клевера лугового

Fig. 1. Effect of cadmium ions on the dynamics of the formation of H_2O_2 in the clover meadow

В то же время количество H_2O_2 в корнях после повышения его уровня к 12 ч оставалось почти неизменным до 24 ч, после чего вновь повышалось к 48 ч. Количество H_2O_2 в корнях снижалось, достигая минимального значения к 96 ч (15 мкмоль/г сырой массы). В наших экспериментах содержание пероксида водорода в побегах к 24 ч увеличивалось практически вдвое и объяснить это можно тем, что какое-то незначительное количество металла проникло в побеги через апопласт. Известно, что одной из основных мишеней действия пероксида, как и других АФК, являются липиды. Проведенное исследование свидетельствует, что в побегах количество малонового диальдегида (МДА), являющегося основным продуктом перекисного окисления фосфолипидов мембран, за первые сутки экспозиции на среде, содержащей Cd^{2+} , возрастало в 1,5 раза, после чего оставалось неизменным на уровне 0,24 мкмоль/г сырой массы до конца эксперимента. В корнях содержание МДА варьировалось, вначале снижаясь и достигая минимального значения к 24 ч (0,17 мкмоль/г сырой массы). К 48 ч оно увеличивалось и оставалось на уровне 0,21 мкмоль/г сырой массы до 72 ч, после чего вновь снижалось к 96 ч эксперимента (рис. 2).

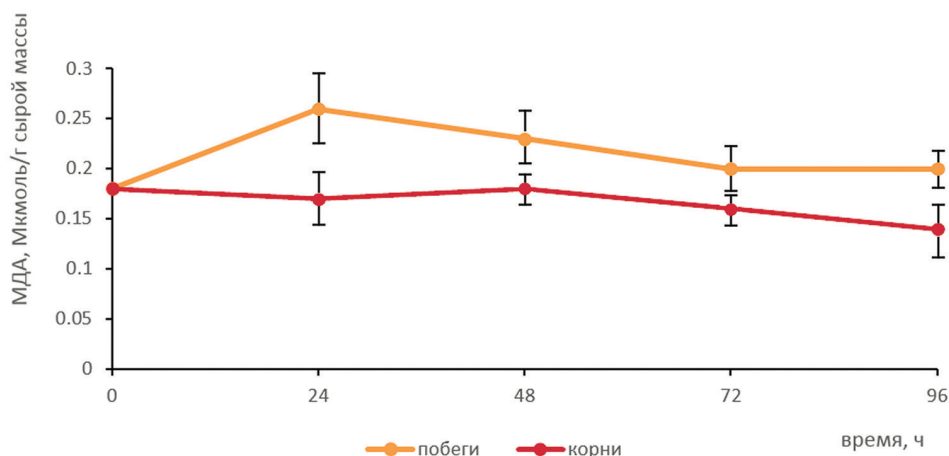


Рис. 2. Влияние ионов кадмия на динамику накопления МДА в органах клевера лугового

Fig. 2. Effect of cadmium ions on the dynamics of accumulation of MDA in the clover meadow

Возрастание интенсивности ПОЛ в начальный период экспозиции на Cd-содержащей среде могло быть связано с избыточной генерацией H_2O_2 в органах клевера лугового. Очевидное соответствие наблюдавшихся изменений (рис. 1, 2) подтверждается высокими коэффициентами корреляции (r), рассчитанными для пары: количество пероксида и МДА. Они оказались равными 0,93 и 0,84 соответственно для побегов и корней. Установлено, что активность ПО в побегах в течение первых 3-х суток оставалась примерно на одном уровне, после чего к 96 ч эксперимента увеличивалась, достигая 3,2 мкмоль/мин·г (рис. 3). Резкий рост содержания пероксида водорода (рис. 1) и незначительное возрастание активности ПО (рис. 3) в побегах в первые 48 ч эксперимента свидетельствуют о том, что данный фермент не играет существенной роли в разложении пероксида в побегах. Это может быть связано с наличием небольшого конститутивного пула фермента, *de novo* синтезом которого можно объяснить повышение его активности к 96 ч эксперимента.

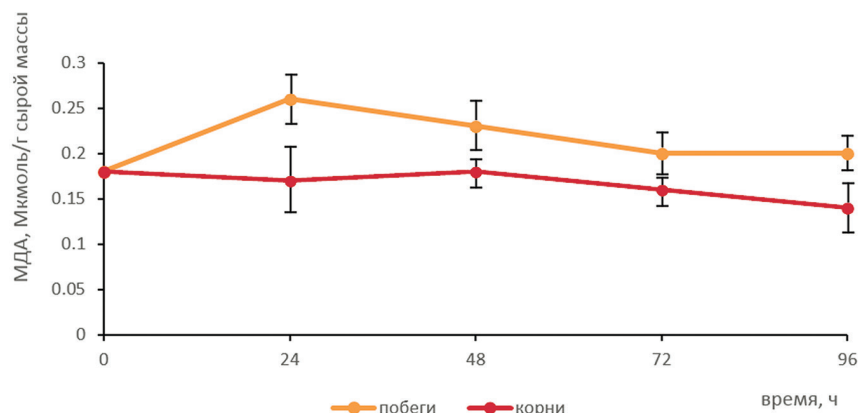


Рис. 3. Влияние ионов кадмия на изменение активности гваяколовой пероксидазы в органах клевера лугового при действии кадмия

Fig. 3. Effect of cadmium ions on the change in the activity of guaiacol peroxidase in clover meadow organs

В то же время в корнях наблюдали 13-кратное увеличение активности фермента в течение первых 12 ч экспозиции на Cd-содержащей среде. Далее происходило постепенное снижение активности пероксидазы, достигавшей к 96 ч величины 1,6 мкмоль/мин·г. Значительное увеличение активности ПО в корнях в первые 12 ч экспозиции (рис. 3), по-видимому, являлось ответной реакцией, связанной с необходимостью ликвидации избыточного образования H_2O_2 . При этом реакция, катализируемая данным ферментом, лежит в основе неупорядоченной полимеризации оксикоричных спиртов (п-кумарового, кониферилового и синапового), в результате которой образуется лигнин. Известно, что кадмий может связываться с карбоксильными и гидроксильными радикалами различных соединений, к которым можно отнести и лигнин.

Активность АПО в вегетативной массе клевера лугового в течение первых 12 ч экспозиции на Cd-содержащей среде снижалась в 2,3 раза, после чего повышалась до уровня в 0,27 мкмоль/мин·г (что было все же на 30 % ниже первоначального значения), и далее она стабилизировалась до конца эксперимента (рис. 4).

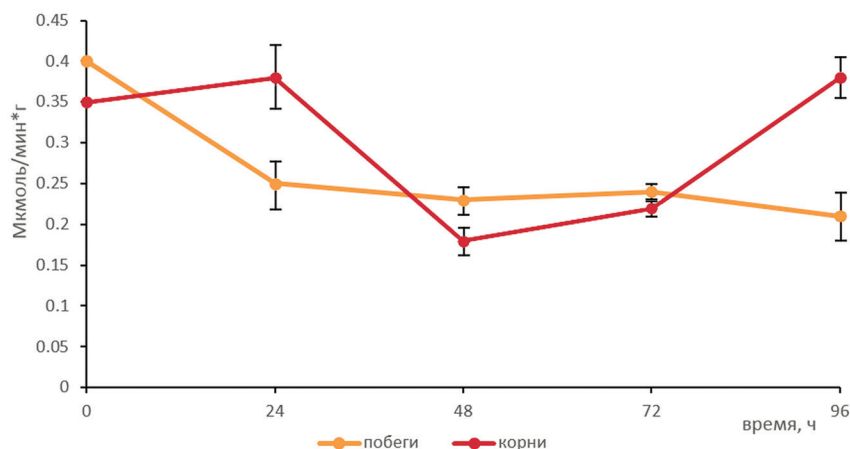


Рис. 4. Влияние ионов кадмия на активность аскорбатпероксидазы в органах клевера лугового

Fig. 4. Effect of cadmium ions on the activity of ascorbate peroxidase in clover meadow organs

Такое падение активности фермента можно объяснить быстрой инактивацией его пула в ходе катализируемой реакции. Ресинтез новых порций фермента (или изозимов), по-видимому, обеспечил возрастание активности после 12 ч эксперимента. Синтез новых молекул фермента, (отчасти) возможно инициирован самим образующимся пероксидом в силу известной сигнальной роли этого вещества. Выход активности на стационарную величину до конца эксперимента (рис. 4) и постепенное снижение количества пероксида (рис. 1) можно объяснить, с одной стороны, поддержанием необходимой скорости синтеза фермента, с другой – повышенной скоростью образования аскорбата из продуктов фотосинтеза.

В корнях активность фермента до 24 ч поддерживалась на примерно одном уровне, а затем к 48 ч снижалась вдвое. Такие данные могут быть объяснены инактивацией конститутивного пула фермента после 24 ч с последующей индукцией синтеза новых его порций (или изоферментов). Подобная динамика активности фермента в корнях на фоне данных по содержанию пероксида водорода (рис. 1) может свидетельствовать о незначительной роли этой биохимической реакции в корнях отчасти из-за невозможности (или низкой скорости) синтеза аскорбата в этой части растений. Повышение активности фермента к 96 ч эксперимента может быть обусловлено как синтезом фермента *de novo*, так и поступлением синтезированного аскорбата из листьев растений клевера лугового. Стресс-индуцированные изменения активности антиоксидантных ферментов (аскорбатпероксидазы и гваяколовой пероксидазы) впервые позволили обнаружить их разную значимость в функционировании антиоксидантной системы разных органов растения. При этом показанное возрастание активности ферментов может быть обусловлено их синтезом *de novo*, который отчасти можно объяснить сигнальной ролью образованного пероксида водорода. Динамика активности ферментов антиоксидантной защиты свидетельствует о разной величине пула исследованных ферментов в органах клевера лугового и разной скорости активации их синтеза *de novo* в ответ на образование пероксида.

Во второй серии опытов установлено, что перекисное окисление липидов хлоропластов изменяется неоднозначно в условиях высокотемпературного стресса: его скорость повышается, но имеет колебательный характер при различной длительности действия температур 38 °C и 45 °C, достигая максимального уровня к 15 мин. При переходе от 38 °C к 45 °C увеличивается амплитуда и уменьшается частота колебаний. В ответ на интенсификацию ПОЛ активируется защитная антиоксидантная система хлоропластов, что выражается в повышении активности глутатионредуктазы к 15 мин гипертермии (38 и 45 °C) и супероксиддисмутазы – при более длительном воздействии. Антиоксидантная система проявляет наибольшую активность при 38 °C только к 60 мин шока, а при 45 °C – на более ранних экспозициях.

Таким образом, температуры 38 и 45 °C оказывают различное влияние на состояние хлоропластов гороха. Температура 45 °C вызывает более сильное действие, в результате которого их ответная реакция происходит быстрее. Возможно, что при температуре 45 °C хлоропласты раньше переходят в состояние, соответствующее второй стадии стресса – стадии повышенной устойчивости, но 60-минутное воздействие уже является повреждающим (рис. 5).

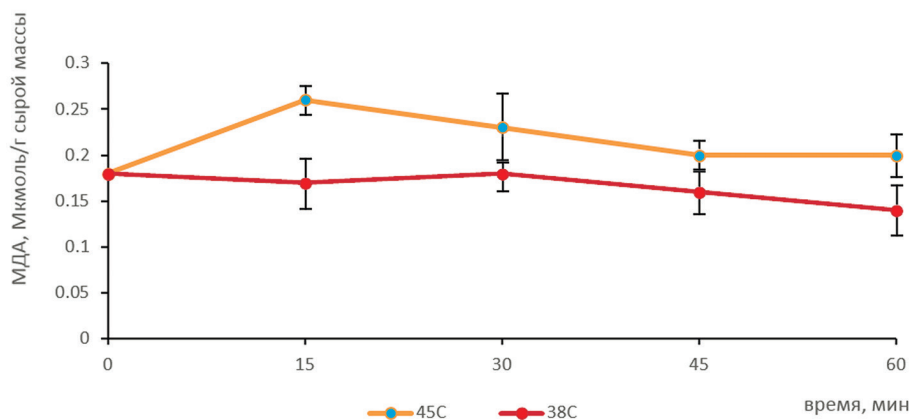


Рис. 5. Влияние высоких температур на динамику активности пероксидазы в хлоропластных мембранах гороха

Fig. 5. Effect of high temperatures on the dynamics of peroxidase activity in chloroplast membranes of pea

В литературе имеются обширные сведения о качественных и количественных изменениях липидного комплекса растительных клеток при неблагоприятных воздействиях температуры, засухи, засоления, аноксии [14]. Меньше известно о динамике или стабильности липидного состава растений в течение одного светового дня.

На третьей серии опытов (полевых) исследован состав липидных компонентов хлоропластных мембран, состав и содержание хлорофиллов и каротиноидов на стадии полных всходов в листьях ячменя и кукурузы в условиях агроценоза (ОАО «Октябрьская революция» д. Гритчино, Дзержинского р-на Минской обл.) в зависимости от времени суток (влажности).

Пробы экспериментальных растений отбирали в утреннее, дневное и вечернее время, когда температура воздуха составляла 16 °С; 32 °С и 23 °С

Суммарное содержание пигментов как в листьях ячменя, так и в листьях кукурузы было максимальным в утренние часы (1,3; 1 в 8 мг/г сырой массы соответственно), затем оно уменьшалось в течение светового дня и достигало минимума в 21 ч (табл. 2). При этом снижалась концентрация как хлорофилла *a* на 20–25 %, так и хлорофилла *b* на 30–33 % соответственно. Однако соотношение зеленых пигментов показало, что в полуденное время концентрация хлорофилла *b* снижалась в большей степени, чем хлорофилла *a*. Содержание каротиноидов оставалось постоянным в течение дня, но их соотношение с зелеными пигментами менялось от 3,0–3,5 до 2,2–2,5 соответственно.

Таблица 2

Состав и содержание пигментов в листьях ячменя и кукурузы

Table 2

Composition and content of pigments in leaves of barley and maize

Пигменты ячменя	Концентрация, мг/г сырой массы		
	7.00 ч	14.00 ч	21.00 ч
Хлорофилл <i>a</i>	0,5±0,2	0,4±0,1	0,2±0,1
Хлорофилл <i>b</i>	0,3±0,3	0,2±0,1	0,2±0,1
Каротиноиды	0,2±0,2	0,2±0,1	0,2±0,1
Сумма пигментов	1,5	1,3	1,2
Хл <i>a</i> / Хл <i>b</i>	1,3	1,5	1,2
Хл (<i>a+b</i>)/каротиноиды	3,0	2,5	2,2
Хлорофилл <i>a</i>	0,8 ± 0,2	0,7±0,1	0,6±0,1
Хлорофилл <i>b</i>	0,6 ± 0,3	0,4±0,1	0,4±0,1
Каротиноиды	0,4 ± 0,2	0,4±0,1	0,4±0,1
Сумма пигментов	1,8	1,5	1,4
Хл <i>a</i> / Хл <i>b</i>	1,3	1,8	1,5
Хл (<i>a+b</i>)/каротиноиды	3,5	2,8	2,5

Следует отметить, что в течение суток менялся водный режим растений. Так, содержание сухой массы в утреннее и вечернее время составило 20–23 %, а в полуденное время – 27 %.

Исходя из данных по содержанию МДА (рис. 6), установлено, что уровень ПОЛ увеличивался в после полудня на 20 % по сравнению с утренним и вечерним временем.

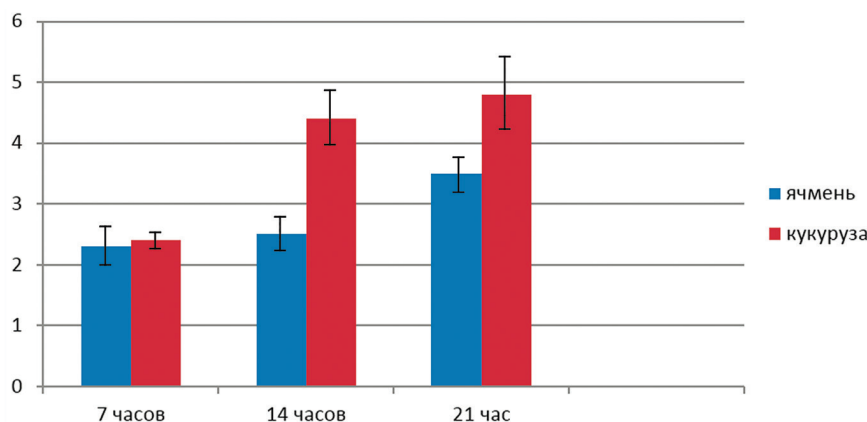


Рис. 6. Содержание МДА (мкмоль/г сырой массы) в листьях ячменя и кукурузы в зависимости от времени суток

Fig. 6. The MDA content (μmol / g wet weight) in barley and maize leaves, depending on the time of day

Содержание СЛ в расчете на 1 г сырой массы растений ячменя и кукурузы варьировало от 12,8–15,5 до 9,6–11,7 мг/г соответственно (табл. 3).

Таблица 3

Содержание липидов в листьях ячменя и кукурузы в зависимости от времени суток

Table 3

The content of lipids in the leaves of barley and corn, depending on the time of day

Липиды в листьях ячменя	Концентрация, мг/г сырой массы		
	7.00 ч	14.00 ч	21.00 ч
Гликолипиды	12,8±1,4	10,4±1,1	9,1±0,9
Фосфолипиды	5,6 ±1,2	3,4±1,1	3,2±0,6
Нейтральные липиды	2,4 ±1,1	1,2±0,1	1,2±0,1
Суммарные липиды	18,5 ± 1,2	13,9± 1,5	12,3± 1,1
Липиды в листьях кукурузы	Концентрация, мг/г сырой массы		
	7.00 ч	14.00 ч	21.00 ч
Гликолипиды	10,8 ± 1,2	9,7±1,1	7,6±0,9
Фосфолипиды	4,6 ± 1,3	4,4±1,1	3,4±0,9
Нейтральные липиды	1,4 ± 1,2	0,9±0,1	1,4±0,2
Суммарные липиды	16,8 ± 1,2	14,5± 1,2	11,5± 1,2

Причем в утреннее и дневное время их количество больше, чем в вечернее. Большую часть СЛ (более 90 %) составили полярные ГЛ и ФЛ, остальная часть пришлась на НЛ (6,0–8,6 %). Количество ГЛ и ФЛ в утреннее и дневное время больше, чем в вечернее, а НЛ – постоянно в течение всего светового дня.

Выявлена зависимость: накопления галактолипидов и зеленых пигментов в СЗ и С4 растений (ячмень и кукуруза) от времени суток (рис. 7, 8).

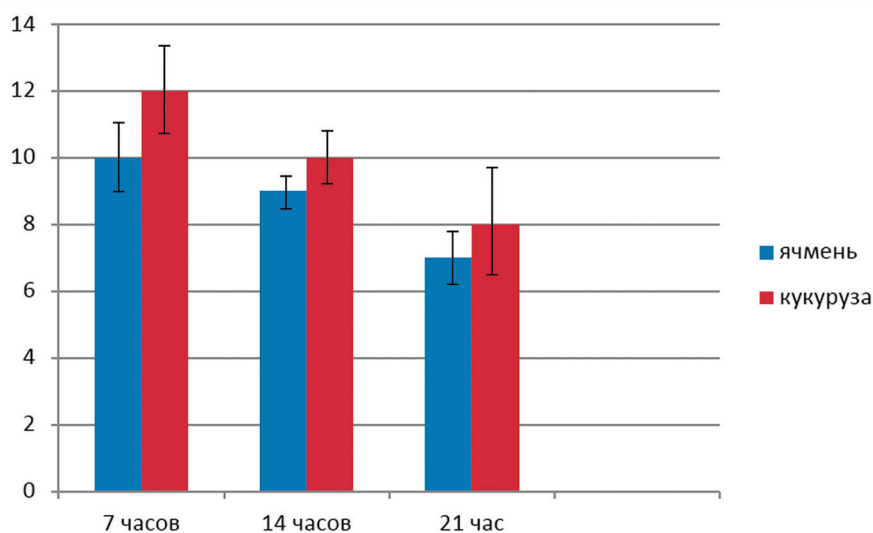


Рис. 7. Содержание галактолипидов в листьях ячменя и кукурузы (мг/г сырой массы) в зависимости от времени суток

Fig. 7. The content of galactolipids in the leaves of barley and corn (mg / g wet weight) depending on the time of day

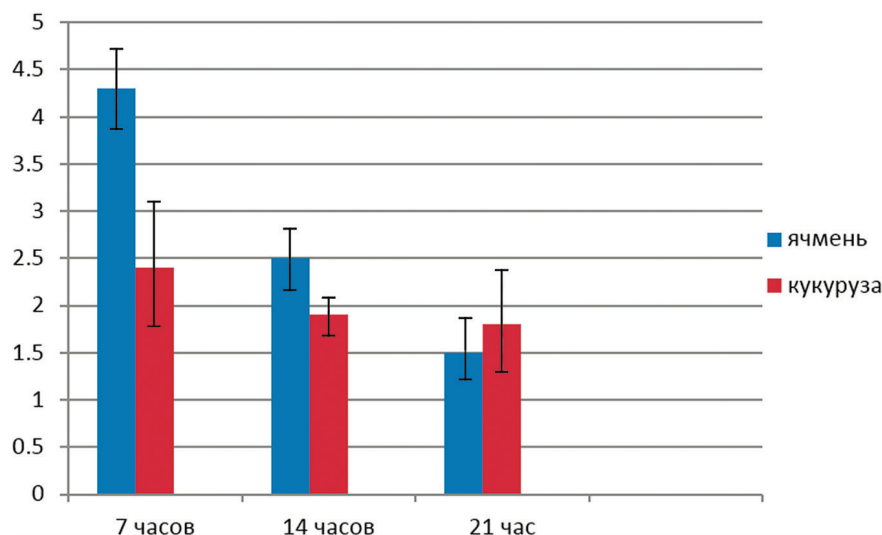


Рис. 8. Содержание хлорофилла (a+b) (мг/г сырой массы) в листьях ячменя и кукурузы в зависимости от времени суток

Fig. 8. The chlorophyll content (a + b) (mg / g wet weight) in the leaves of barley and corn, depending on the time of day

Установлена закономерность: в полуденное время, когда уменьшается содержание влаги в листьях растения, то снижается концентрация хлорофиллов, однако возрастает уровень перекисного окисления липидов.

Известно, что количество пигментов, липидов и их соотношение являются показателями нормального развития растений и протекания фотосинтетических реакций [10]. В наших исследованиях концентрация зеленых пигментов зависела от времени суток – в послеполуденное и вечернее время отмечены меньшие концентрации зеленых пигментов по сравнению с утренним временем. Известно, что одним из условий, влияющих на образование хлорофиллов, является достаточное для растения содержание влаги. В полуденное время температура воздуха была вдвое выше, чем в утреннее время. Это вызывало изменение водного баланса и, как следствие, снижение концентрации пигментов. Тогда же происходило наибольшее накопление МАД – конечного продукта ПОЛ. Вероятно, что высокая температура и интенсивность света в это время суток приводили к увеличению образования активных форм кислорода в клетках, которые окисляют органические молекулы с образованием продуктов ПОЛ [16]. Таким образом, уменьшение вклада ГЛ связано с их частичным разрушением в результате ПОЛ в дневное и вечернее время. В то же самое время известно, что в условиях интенсивного освещения формируется большое число более мелких фотосинтетических единиц, характерных для высокоактивных систем, увеличивается отношение хлорофиллов a/b , возрастает общая продуктивность фотосинтеза [17]. Адаптация фотосинтетического аппарата связана в том числе с изменением состава ГЛ. Достаточно постоянный состав ГЛ и небольшое накопление МГДГ к 14 ч свидетельствуют об эффективной адаптации растений к условиям освещенности [18].

В отношении ФЛ показано, что наибольшие изменения связаны с уменьшением относительного вклада ФХ. Этот липид является субстратом для фосфолипазы D, действие которой направлено и на ФЭ [19]. Уменьшение концентрации ФХ и накопление ФК свидетельствует в пользу активации этого процесса. Увеличение концентрации ФГ в послеполуденное время может быть связано с необходимостью стабилизации комплексов фотосистем [20].

В отличие от полярных липидов, состав и содержание ЖК оставалось неизменным в течение всего светового дня.

Выявлена зависимость: накопление ГЛ и зеленых пигментов отмечено в утренние часы; в послеполуденное время, с уменьшением содержания влаги в листьях растения, снижается концентрация хлорофиллов, возрастает уровень ПОЛ, увеличивается концентрация МГДГ и ФК; содержание же ЖК практически неизменно в течение всего светового дня. Полученные результаты свидетельствуют о динамичности биохимических характеристик, что может быть важным для оценки состояния агроценоза.

В серии полевых экспериментов, посвященных изучению влияния загрязнения территории ^{137}Cs цезием на антиоксидантную систему популяции сосны обыкновенной Наровлянского и Ветковского лесхозов Гомельской обл., было установлено, что с увеличением степени загрязнения участков содержание антоцианов в исследуемых растениях увеличивалось. В условиях максимального загрязнения радиоцезием

уровень антоцианов был выше фонового: в хвое сосны, произрастающей на территории обоих лесничеств, в 2,2 и 8,9 раза соответственно.

Оценка суммарной антиоксидантной активности в хвое сосны обыкновенной в условиях загрязнения радиоцезием показала, что содержание водорастворимых антиоксидантов снижалось с ростом уровня загрязнения площадок наблюдения радионуклидами. В условиях минимальных концентраций ¹³⁷цезия в почве уровень водорастворимых антиоксидантов был значительно выше антиоксидантного статуса растений обоих фитоценозов. В условиях максимального загрязнения радиоцезием антиоксидантный статус в исследуемых растениях был ниже фонового в хвое сосны из обоих лесхозов в 7,4–7,8 раза соответственно [11; 21].

Заключение

По пятилетнему циклу научно-исследовательских работ необходимо сделать следующие выводы:

- дана оценка антиоксидантного статуса растений из местообитаний с разной антропогенной нагрузкой;
- проведен сравнительный анализ устойчивости растений к неорганическим поллютантам и радионуклидам;
- выявлена значимость низкомолекулярных и высокомолекулярных компонентов системы антиоксидантной защиты при формировании устойчивости растений к антропогенному стрессу;
- разработаны методические рекомендации по использованию параметров антиоксидантной системы для комплексной диагностики устойчивости растений к антропогенному воздействию.

В ходе исследований выявлено, что в условиях хронического загрязнения окружающей среды у изученных видов наземных и у ряда водных растений в градиенте антропогенной нагрузки происходят существенные изменения на разных уровнях организации – молекулярном, клеточном, тканевом и организменном. Результаты модельных экспериментов доказывают, что наземные и водные растения проявляют сходные ответные реакции клеточного уровня, которые можно рассматривать как защитно-приспособительные реакции, представляющие собой общие неспецифические механизмы защиты растений.

Возрастание активности антиоксидантных ферментов и увеличение содержания низкомолекулярных антиоксидантов при действии стрессоров химической природы непосредственно направлены на повышение резистентности растений в экстремальных условиях среды. Сопоставление про- и антиоксидантных процессов у разных видов растений свидетельствует о том, что растения с более высоким антиоксидантным статусом обладают более высоким адаптивным потенциалом к различным неблагоприятным воздействиям, включая действие органических поллютантов. Следовательно, изучение антиоксидантного статуса является удобной моделью для оценки устойчивости растений к антропогенным воздействиям.

Широкий спектр объектов, комплексный подход к оценке устойчивости растений на стрессовые факторы различной природы, сочетание полевого и лабораторного эксперимента, работа с растениями в условиях длительного и кратковременного загрязнения, с исходными формами и их семенным потомством позволили оценить роль компонентов антиоксидантной защиты растений и определить характер взаимосвязи между этими компонентами и устойчивостью видов в целом.

Библиографические ссылки

1. Капич А. Н., Корнейчик Т. В. Определение антиоксидантной активности на модели перекисного окисления линолевой кислоты, инициированного грибной марганец пероксидазой // Успехи медицинской микологии / Национальная академия микологии. Минск, 2007. Т. 9. Гл. 5. С. 162–164.
2. Шурхай С. Ф., Артемук Е. Г. Антиоксидантные свойства водных экстрактов некоторых лекарственных растений // Весці Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. Минск, 2003. Вып. 2. С. 31–35.
3. Гончарова Н. В. Растения и антропогенные стрессоры. Минск, 2005.
4. Гончарова Н. В. Растительные компоненты как индикаторы состояния наземных экосистем: процессы регуляции и ремедиации: монография. Минск, 2016.
5. Позняк С. С., Жильцова Ю. В., Романовский Ч. А. Оценка аккумуляции тяжелых металлов и образование антиоксидантных веществ в растениях Беларуси // Труды Белорусского государственного университета. Серия «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем». Минск, 2010. Т. 5. Ч. 1. С. 89–94.
6. Жильцова Ю. В., Позняк С. С. Влияние экологических факторов на антиоксидантно-прооксидантное равновесие и накопление химических элементов в высших водных растениях Республики Беларусь // Экологический вестник. 2013. № 4 (26). С. 95–102.
7. Жильцова Ю. В., Позняк С. С. Новые методические подходы к эколого-гигиенической оценке растительного сырья водоемов // Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. Минск, 2009. Вып. 13. С. 51–56.

8. Жильцова Ю. В., Позняк С. С. Антиоксидантная активность высших водных растений в условиях воздействия тяжелых металлов // Экологический вестник. 2010. № 2 (12). С. 138–143.
9. Лукаткин А. С., Голованова В. С. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений // Физиология растений. 1988. Т. 35. Вып. 4. С. 773–780.
10. Гончарова Н. В., Сермакшева Е. В., Ковалев В. Ф. Липидные компоненты фотосинтетических мембран растений как тест-система оксидного стресса и устойчивости агроценозов // Экологический вестник. 2014. № 1. С. 13–22.
11. Гончарова Н. В., Сермакшева Е. В., Ковалев В. Ф. Реакция пигментной и антиоксидантной системы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на загрязнение окружающей среды цезием-137 в Наровлянском и Ветковском лесхозах // Экологический вестник. 2014. № 2. С. 109–114.
12. Радиационный контроль. Отбор и подготовка проб лесной продукции. Порядок проведения. Радиационный контроль. Абор і падрыхтоўка проб лясной прадукцыі : ТКП 251-2010 (02080). Введ. 01.09.2010. Минск : Государственное учреждение радиационного контроля и радиационной безопасности «Беллесрад», 2010.
13. Полевой В. В., Максимова Г. Б. Методы биохимического анализа растений. Л., 1978.
14. Яшин А. Я., Яшин Я. И. Новый прибор для определения антиоксидантной активности пищевых продуктов, биологически активных добавок, растительных лекарственных экстрактов и напитков // Приборы и автоматизация. 2004. № 11. С. 45–48.
15. Позняк С. С. Оценка адаптационной способности сеgetальных растений к факторам внешней среды // Экологический вестник. 2014. № 3 (29). С. 33–38.
16. Лукаткин А. С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений. Повреждение клеточных мембран при охлаждении теплолюбивых растений // Физиология растений. 2003. Т. 50. С. 271–274.
17. Максимов И. В., Черепанова Е. А. Про/антиоксидантная система и устойчивость растений к патогенам // Успехи современной биологии. 2006. Т. 126. С. 250–261.
18. Махдавиан К., Горбанли М., Калантари Х. М. Влияние салициловой кислоты на формирование окислительного стресса, индуцированного УФ-светом в листьях перца // Физиология растений. 2008. Т. 55. С. 620–624.
19. Минибаева Ф. В., Гордон Л. Х. Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе // Физиология растений. 2003. Т. 50. С. 459–464.
20. Yamasaki H., Uefuji H., Sakihama Y. Bleaching of the red anthocyanin induced by superoxide radical // Archives of Biochemistry and Biophysics. 1996. Vol. 332. P. 183–186.
21. Ковалев В. Ф., Гончарова Н. В. Влияние климатических факторов на формирование семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в условиях перманентного // Экологический вестник. 2018. № 1. С. 38–47

References

1. Kapich A. N., Korneichik T. V. [Determination of antioxidant activity on the model of peroxidation of linoleic acid initiated by fungal manganese peroxidase]. *Progress in Medical Mycology / National Academy of Mycology*. Minsk, 2007. Vol. 9. Chap. 5. P. 162–164 (in Russ.).
2. Shurkhay S. F., Artemuk E. G. [Antioxidant properties of water extracts of some medicinal plants]. *Vestsi Natsyynalnaya Akademii of the Slavic Belarus. Gray biyalagichnykh navuk*. Minsk, 2003. Issue. 2. P. 31–35 (in Russ.).
3. Goncharova N. V. [Plants and anthropogenic stressors]. Minsk, 2005 (in Russ.).
4. Goncharova N. V. [Plant components as indicators of the state of terrestrial ecosystems: regulatory and remediation processes: monograph]. Minsk, 2016 (in Russ.).
5. Poznyak S. S., Zhiltsova Yu. V., Romanovsky Ch. A. [Assessment of the accumulation of heavy metals and the formation of antioxidant substances in plants of Belarus]. *Proceedings of the Belarusian State University. A series of «Physiological, biochemical and molecular basis of functioning of biosystems»*. Minsk, 2010. Vol. 5. Part 1. P. 89–94 (in Russ.).
6. Zhiltsova Yu. V., Poznyak S. S. [Influence of ecological factors on antioxidant-prooxidant balance and accumulation of chemical elements in higher water plants of the Republic of Belarus]. *The Ecological Herald*. 2013. No. 4 (26). P. 95–102 (in Russ.).
7. Zhiltsova Yu. V., Poznyak S. S. [New methodical approaches to the ecological and hygienic assessment of plant raw materials in water bodies]. *Health and Environment: Sat. sci. tr*. Minsk, 2009. Issue. 13. P. 51–56 (in Russ.).
8. Zhiltsova Yu. V., Poznyak S. S. [Antioxidant activity of higher aquatic plants under the influence of heavy metals]. *The Ecological Herald*. 2010. No. 2 (12). P. 138–143 (in Russ.).
9. Lukatkin A. S., Golovanova V. S. [Intensity of lipid peroxidation in chilled leaves of heat-loving plants]. *Physiology of plants*. 1988. Vol. 35. Issue 4. P. 773–780 (in Russ.).
10. Goncharova N. V., Sermaksheva E. V., Kovaliou V. F. [Lipid components of plant photosynthetic membranes as a test system of oxide stress and agrocenosis stability]. *The Ecological Herald*. 2014. No. 1. P. 13–22 (in Russ.).
11. Goncharova N. V., Sermaksheva E. V., Kovalev V. F. [The reaction of pigment and antioxidant pine (*Pinus sylvestris* L.) system to environmental pollution by cesium-137 in Narovlyansky and Vetka leshozes]. *The Ecological Herald*. 2014. No. 2. P. 109–114 (in Russ.).
12. Radiation control. Selection and preparation of samples of forest products. Order of conduct. Radyatsyna control. Aбор і падрыхтоўка samplasnoy pracuktsi: ТКП 251-2010 (02080). Introd. 01.09.2010. Minsk: State Establishment of Radiation Control and Radiation Safety «Bellehrad», 2010.
13. Polevoy V. V., Maksimova G. B. [Methods of biochemical analysis of plants]. Leningrad, 1978 (in Russ.).
14. Yashin A. Ya., Yashin Ya. I. [A new device for determining the antioxidant activity of food products, biologically active additives, herbal medicinal extracts and beverages]. *Appliances and automation*. 2004. No. 11. P. 45–48 (in Russ.).
15. Poznyak S. S. [Assessment of adaptive capacity of segetal plants to environmental factors]. *The Ecological Herald*. 2014. No. 3 (29). P. 33–38 (in Russ.).
16. Lukatkin A. S. [The contribution of oxidative stress to the development of cold damage in leaves of heat-loving plants. Damage to cell membranes during cooling of heat-loving plants]. *Physiology of plants*. 2003. Vol. 50. P. 271–274 (in Russ.).
17. Maksimov I. V., Cherepanova E. A. [Pro/antioxidant system and plant resistance to pathogens]. *Advances in modern biology*. 2006. Vol. 126. P. 250–261 (in Russ.).

18. Mahdavian K., Gorbali M., Kalantari H. M. [The influence of salicylic acid on the formation of oxidative stress induced by UV light in pepper leaves]. *Physiology of Plants*. 2008. Vol. 55. P. 620–624 (in Russ.).
19. Minibaeva F. V., Gordon L. Kh. [Superoxide production and activity of extracellular peroxidase in plant tissues under stress]. *Physiology of plants*. 2003. Vol. 50. P. 459–464 (in Russ.).
20. Yamasaki H., Uefuji H., Sakihama Y. Bleaching of the red anthocyanin induced by superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1996. Vol. 332. P. 183–186.
21. Kovalev V. F., Goncharova N. V. [Influence of climatic factors on the formation of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) under conditions of permanent irradiation]. *The Ecological Herald*. 2018. No. 1. P. 38–47 (in Russ.).

Статья поступила в редколлегию 26.06.2018
Received by editorial board 26.06.2018