

УДК 574.24+574.21

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ *TRIFOLIUM MEDIUM* L.
ИЗ ПРИРОДНЫХ МЕСТООБИТАНИЙ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ
ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

© Э.Р. Фазлиева, И.С. Киселева

Тяжелые металлы – экстремальный фактор, способный вызвать загрязнение окружающей среды и повреждение растительных организмов. В данной работе было оценено содержание фотосинтетических пигментов у растения *Trifolium medium* L., а также определена концентрация пролина и активность супероксиддисмутазы. Показано, что растения из биотопов с высоким уровнем техногенной нагрузки обладают лучшей способностью адаптироваться к стрессовым воздействиям, чем растения из фоновых биотопов. Определена возможность использования данного вида в качестве биомонитора техногенной нагрузки.

Ключевые слова: *Trifolium medium* L., тяжелые металлы, фотосинтетические пигменты, пролин, супероксиддисмутаза.

К экстремальным факторам, способным вызывать повреждения растительных организмов, следует отнести загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами. Растительность не только весьма чувствительна к нарушениям окружающей среды, но и наглядно отражает ее нарушения в результате антропогенного воздействия путем изменения разных признаков. В первую очередь и в наибольшей степени неблагоприятным воздействиям подвергается фотосинтетический аппарат растения. Кроме того, общеизвестно, что важную роль в защите от негативного действия тяжелых металлов и вызываемых при этом свободных радикалов, в том числе активных форм кислорода, а также в адаптации растений играют ферменты антиоксидантной защиты и низкомолекулярные антиоксиданты. Способность растений в большей или меньшей степени адаптироваться к стрессовым факторам может служить также основой для их использования в качестве мониторов или индикаторов загрязнения окружающей среды.

Объектом работы являлось многолетнее травянистое растение (сем. Fabaceae): *Trifolium*

medium L., эврибионтный вид, встречающийся повсеместно, в том числе в градиенте загрязнения. *T. medium* является одним из лекарственных растений, ранних медоносных, используется в косметологии. Используют как кормовое растение. В связи с этим интерес представляет накопление в этих растениях токсикантов в естественных условиях их произрастания, особенно в местообитаниях, подвергающихся техногенному воздействию, а также реакции растений на это воздействие.

У растений *T. medium* из местообитаний, различающихся токсической нагрузкой, было оценено содержание фотосинтетических пигментов, концентрация низкомолекулярного антиоксиданта пролина и активность фермента супероксиддисмутазы.

Цель исследования – выявление физиолого-биохимических особенностей растений *Trifolium medium* L. из природных биотопов с разным уровнем техногенной нагрузки, а также оценка возможности использования данного вида в качестве индикаторного.

Растения *T. medium* были взяты из пяти местообитаний в окрестностях г. Нижний Та-

ФАЗЛИЕВА Эльвира Рашидовна, Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, e-mail: elvira_nt@list.ru

КИСЕЛЁВА Ирина Сергеевна – к.б.н., Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, e-mail: Irina.Kiselyova@usu.ru

гил Свердловской области, в разной степени подверженных техногенному воздействию. Уровень общей токсической нагрузки варьирует от 1,0 до 8,36 отн. ед. [1]. В соответствии с уровнем загрязнения почв тяжелыми металлами участки ранжированы на зоны: фоновая ($S_i = 1,0$ отн. ед.), буферная ($S_i = 3,33; 8,36$ отн. ед.). Дополнительно растения собирали на биостанции УрФУ в Сысертском районе Свердловской области в зоне относительного экологического благополучия (2,55 отн. ед.).

Содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов определяли спектрофотометрически в ацетоновых (80%) экстрактах [2]. Содержание свободного пролина в растениях определяли по методу Bates [3] в модификации Л.Г. Калинкиной с соавторами [4] с использованием кислого нингидринового реактива. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли методом, основанным на измерении

ингибирования фотохимического восстановления нитросинего тетразолия [5].

Статистический анализ данных выполнен в Statistica-6.0 («StatSoft», 1984-2001). Бары на графиках соответствуют ошибке среднего. Различия между растениями с разных по уровню токсической нагрузки участков оценивали с использованием непараметрического критерия U – критерия Манна-Уитни и с помощью регрессионного анализа (R^2).

При определении содержания фотосинтетических пигментов у *T. medium* были получены следующие данные (рис. 1).

В листьях *T. medium* из участка с нагрузкой 8,36 отн. ед. наблюдается минимальное содержание фотосинтетических пигментов по сравнению с другими. Относительно фоновой зоны содержание хлорофилла *a* уменьшилось на 70%, хлорофилла *b* – на 73%, каротиноидов – на 54%.

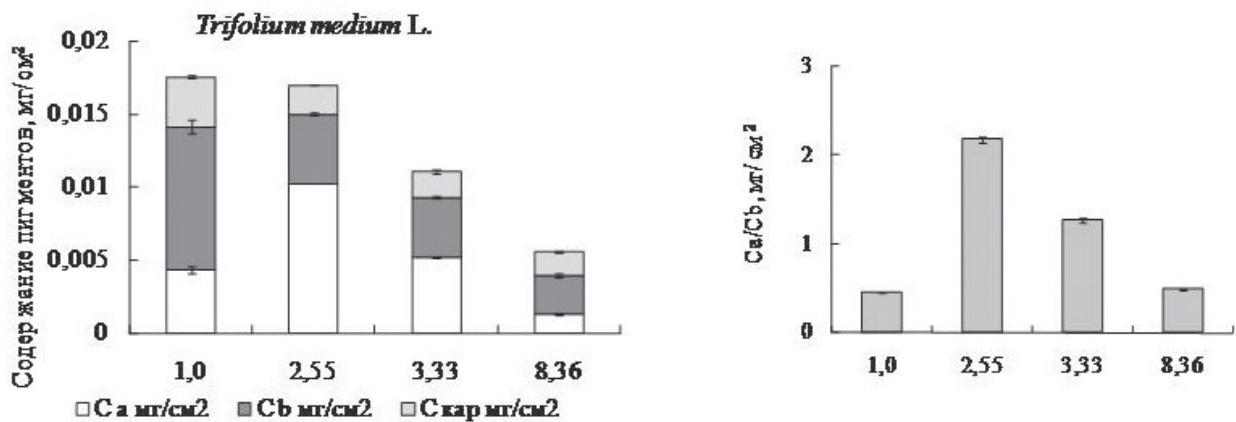


Рис. 1. Содержание фотосинтетических пигментов в *Trifolium medium* L. из разных местообитаний. Ось абсцисс – токсическая нагрузка, отн. ед.

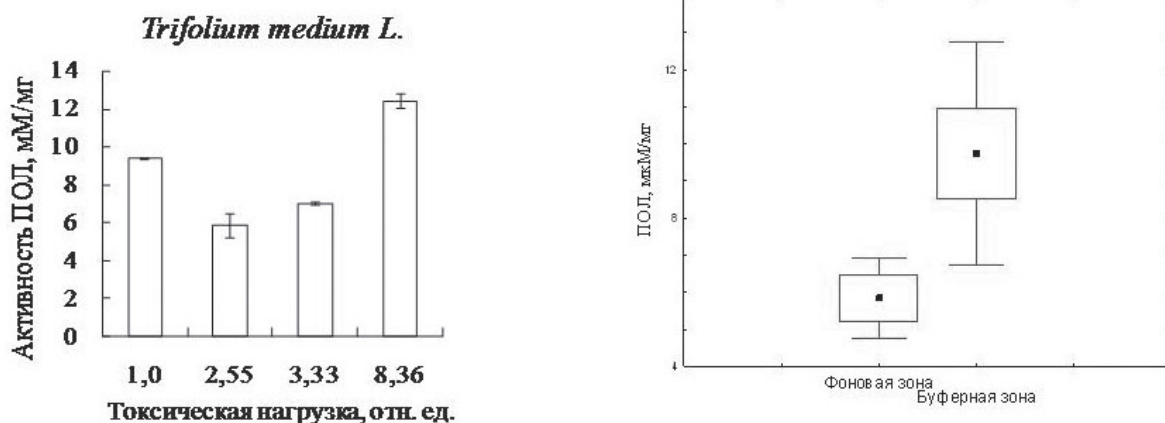


Рис. 2. Интенсивность ПОЛ у растений *Trifolium medium* L. из разных местообитаний

Наблюдаемое уменьшение содержания хлорофиллов *a* и *b*, а также каротиноидов по мере возрастания химического загрязнения говорит о значительном нарушении синтеза пигментов, что приводит к увеличению свободных радикалов в клетке.

Одним из возможных компонентов быстрой реакции на стресс является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ). Наименьшее содержание ТБК-реагирующих продуктов в листьях характерно для растений из фоновых биотопов, максимальное – из местообитания с нагрузкой 8,36 отн. ед. Для растений из буферного участка (3,33 отн. ед.) характерны промежуточные значения ПОЛ (рис. 2).

Перекисное окисление липидов в клетке регулируется многоуровневой антиоксидантной системой защиты, которая представлена ферментами-антиоксидантами, важнейшими из которых являются супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, пероксидаза и другие, а также низкомолекулярными компонентами.

Обнаружено, что активность СОД у растений *T. medium* изменялась неоднозначно, но в целом зависела от степени техногенного воздействия. Так, активность СОД у растений из фонового участка (2,55 отн. ед.) была ниже по сравнению с загрязненными биотопами (рис. 3). Активность фермента в листьях *T. medium* из буферных биотопов практически не отличается от активности СОД у растений из первого фонового участка (1,0 отн. ед.).

Пролин, будучи низкомолекулярным антиоксидантом, может также быть фактором формирования устойчивости растений при стрессе.

У представителя семейства Fabaceae, способных накапливать значительные количества тяжелых металлов, содержание пролина возрастает при увеличении антропогенного воздействия (рис. 4, а). Анализ супероксиддисмутазной активности показал низкую активность фермента у растений *T. medium*. Однако невысокая активность СОД у расте-

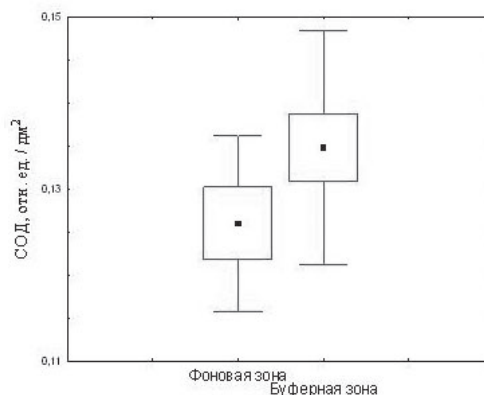
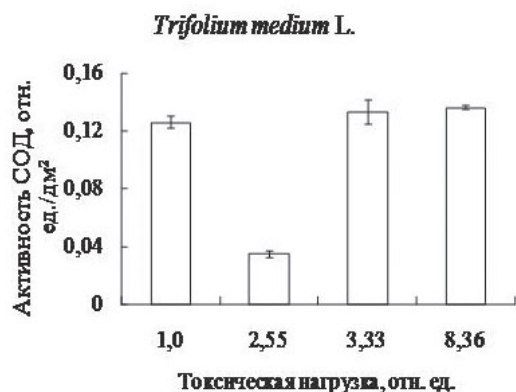


Рис. 3. Активность СОД у растений *Trifolium medium* L. из разных местообитаний

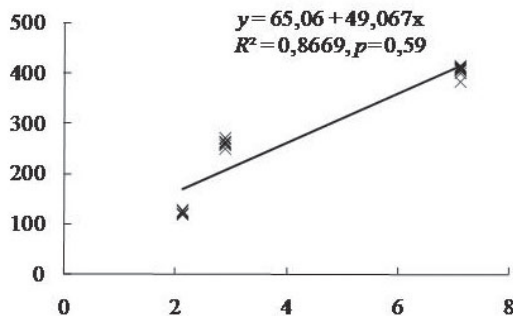
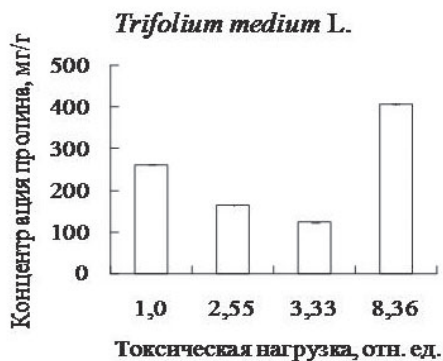


Рис. 4. Содержание пролина у растений *Trifolium medium* L. из разных местообитаний

ний из загрязненных участков компенсируется высоким содержанием пролина (см. рис. 4).

Полученные данные можно подтвердить результатами экспериментов А.В. Карташова с соавторами [6] с дикорастущими видами растений, где было продемонстрировано наличие баланса между активностью СОД и аккумуляцией пролина в случае действия хлорида натрия: у растений с наибольшей активностью фермента содержание пролина было невысоким и наоборот. В данном случае авторы говорят, что, принимая участие в детоксикации, АФК СОД и пролин как бы «заменяют» друг друга в адаптационном процессе, проявляют реципрокный характер отношений.

Проведенный регрессионный анализ (см. рис. 4, б) наглядно показал, что растения *T. medium* из техногенно нарушенных местообитаний, характеризующиеся высоким содержанием тяжелых металлов в почвах, характеризовались высоким содержанием низкомолекулярного антиоксиданта пролина, что может являться подтверждением их повышенной устойчивости к поллютантам химической природы (тяжелым металлам).

Результаты исследования позволяют заключить, что растения *T. medium* из биотопов с высоким уровнем техногенной нагрузки обладают лучшей способностью адаптироваться к стрессовым воздействиям, чем растения из фоновых биотопов. Результаты наших исследований показывают усиление ПОД в листьях растений при увеличении уровня загрязнения местообитаний тяжелыми металлами. У исследуемого вида, произрастающего в условиях химического загрязнения почвы, выявлены механизмы биохимической адаптации, проявляющиеся в суще-

ственной индукции синтеза пролина и активации ферментов антиоксидантной защиты. Пигментный комплекс *T. medium* чувствителен к воздействию тяжелых металлов, что говорит о возможном использовании его в качестве индикатора стрессового воздействия при экологическом мониторинге. Таким образом, была определена возможность использования данного признака в качестве индикатора техногенной нагрузки на растения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жуйкова Т.В., Безель В.С., Мордвина Е.С. Фитоценозы техногенно нарушенных территорий и их роль в биогенных циклах химических элементов // Ученые записки: Мат-лы Всероссийской научно-практической конференции «Экология промышленного региона и экологическое образование». Нижний Тагил: НТГСПА, 2006. С. 31–72.
2. Гавриленко В. Ф., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высшая школа, 1975. 392 с.
3. Bates L. S. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205–207.
4. Калинкина Л.Г., Назаренко Л.В., Гордеева Е.Е. Модифицированный метод выделения свободных аминокислот для определения на аминокислотном анализаторе // Физиология растений. 1990. Т. 37. С. 617–621.
5. Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels // Anal. Biochem. 1971. V. 44. P. 276–287.
6. Карташов А.В., Радюкина Н.Л., Иванов Ю.В., Пашковский П.П., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Роль систем антиоксидантной защиты при адаптации дикорастущих видов растений к солевому стрессу // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 4. С. 516–522.

BIOCHEMICAL TRAITS OF *TRIFOLIUM MEDIUM* L. FROM NATURAL HABITATS WITH DIFFERENT LEVELS OF TECHNOGENIC POLLUTION

© E.R. Fazlieva, I.S. Kiselyova

Heavy metals represent an extreme factor able to cause environmental pollution and damage vegetative organisms. In this study, we assess the content of photosynthetic pigments in *Trifolium medium* L. and determine the proline concentration and fermentative activity (superoxide dismutase). It is shown that plants from biotopes with high levels of technogenic loading possess greater ability to adapt to stressful influences than plants from background biotopes. The evaluation is given for possible use of this species as a biomonitor of technogenic loading.

Key words: *Trifolium medium* L., heavy metals, photosynthetic pigments, proline, superoxide dismutase.