

УДК 581.1: 581.5

СОДЕРЖАНИЕ ПЕРОКСИДНЫХ ГРУППИРОВОК В ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНАХ ГАЗОННЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЫ

М.Г. Половникова¹, О.Л. Воскресенская²

¹Кубанский государственный университет физической культуры,
спорта и туризма, Краснодар

²Марийский государственный университет», Йошкар-Ола

В условиях урбанизированной среды в вегетативных органах газонных растений (мятлик луговой, клевер ползучий) определяли содержание пероксидных группировок (ПГ). В работе использовались растения трех возрастных состояний: виргинильные (v), средневозрастные генеративные (g₂) и субсенильные (ss). По мере усиления загрязнения среды увеличивалось содержание пероксидных группировок в листьях и корнях газонных растений. При этом максимальная концентрация ПГ у *Trifolium repens* L. отмечалось в корнях, а у *Poa pratensis* L. – в листьях.

Ключевые слова: клевер ползучий, мятлик луговой, онтогенез, урбанизированная среда, загрязнение, пероксидные группировки.

DOI: 10.26456/vtbio42

Введение. Свободные радикалы и другие активные формы кислорода (АФК) оказывают значительную роль в регуляции основных функций клетки, как в спокойном состоянии, так и при воздействии на клетку различных негативных факторов. Содержание АФК (синглетный кислород (O₂*), супероксид-радикал (O₂⁻), гидроксил-радикал (ОН*) и перекись водорода (H₂O₂) в клетке увеличивается при различных видах стрессов и может вызывать ее повреждение (Минибаева, Гордон, 2003; Половникова, Воскресенская, 2008; Половникова, 2010). Активные формы кислорода реакционноспособны и легко переходят из одной формы в другую, окисляя при этом различные молекулы.

В результате многочисленных исследований установлено, что универсальной реакцией растительной клетки на экстремальные условия внешней среды является активизация процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Барабой, 1992; Половникова, Воскресенская, 2008; Ясар и др., 2008; Спивак, 2010; Михайлова, Лукаткин, 2016). Радикальные реакции ПОЛ протекают во всех живых

клетках, главным образом в липидных структурах мембран. Процесс ПОЛ делят на три фазы: зарождение цепей, развитие цепных реакций и обрыв цепей. На стадии зарождения цепей под действием различных стресс-факторов происходит образование органических радикалов ($R\cdot$). На следующем уровне $R\cdot$ быстро взаимодействует с O_2 . В результате такого взаимодействия образуются пероксидные радикалы ($RO_2\cdot$), которые, в свою очередь, атакуют ненасыщенные липиды и способствуют продолжению окислительной цепи с образованием органических перекисей (гидропероксиды ДНК, белков, липидов) и новых радикалов, то есть происходит перекисное окисление. По структуре пероксидные группировки подобны H_2O_2 и химически тоже активны, могут включаться в дальнейший процесс генерации радикалов. Разрыв цепей наблюдается в результате рекомбинации радикалов с образованием неактивных продуктов, а также при взаимодействии радикалов с антиоксидантами (Хавинсон, 2003; Полесская, 2007).

Продукты пероксидации, образовавшиеся в первичной вспышке ПОЛ в ответ на действие стресс-агента, являются первичными медиаторами активации ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы (АОС), которые служат передовой линией защиты от токсического действия кислорода.

Накопление в клетке большого количества АФК, бесспорно, является отрицательным фактором. Однако широкий спектр биохимических реакций, в которых они участвуют, заставляет предполагать, что роль кислородных радикалов в жизнедеятельности организмов также огромна, как и их негативное действие при высоких концентрациях. В низких концентрациях АФК играют важную роль в нормальных метаболических процессах, имея широкий спектр физиологического действия (Карапетян, Мкртчян, 1996).

Устойчивость растений к негативным факторам окружающей среды в значительной степени определяется соотношением уровня АФК и активности АОС. Одним из маркеров окислительного стресса растений является уровень содержания пероксидных группировок, концентрация которых в растительных клетках широко варьирует в зависимости от условий внешней среды, видовых особенностей, возраста и некоторых других факторов (Van Breusegem et al., 2001; Духовский и др., 2003).

Методика. В ходе работы исследования физиолого-адаптационного процесса у растений в онтогенезе, экологическая толерантность по отношению к экологическим и антропогенным факторам базировались на концепции дискретного описания онтогенеза (Жукова, 1995).

Объектами изучения являлись газонные растения: клевер ползучий (*Trifolium repens* L.) – стержнекорневое многолетнее травянистое растение, представитель семейства Fabaceae, мятлик луговой (*Poa pratensis* L.) – плотнодерновинно-длиннокорневищное многолетнее травянистое растение, представители семейства Poaceae.

В онтогенезе данных растений выделяют четыре периода с десятью возрастными состояниями: латентный (семена), прегенеративный (проростки, ювенильные, имматурные, виргинильные растения), генеративный (молодые, средневозрастные, старые генеративные растения) и постгенеративный (субсенильные, сенильные растения). В нашей работе использовались растения трех возрастных состояний: виргинильные (v), средневозрастные генеративные (g₂) и субсенильные (ss). Определение онтогенетических состояний проводили на основе признаков-маркеров онтогенетических состояний: форма и размер листовой пластинки, ветвление побеговой и корневой систем (Жукова, 1995).

Район исследования. Исследования проводились на территории города Йошкар-Олы Республики Марий Эл. Для анализа были взяты пробы в условно чистой (ООПТ «Сосновая роща»), среднезагрязненной (парк им. XXX-летия ВЛКСМ) и загрязненной (АО «Завод Искож») зонах. Выбор районов исследования основывался на данных химического анализа атмосферного воздуха и почвы, которые были проведены нами на базе филиала Центра лабораторного анализа и технических измерений по Республике Марий Эл и на данных Государственного доклада о состоянии окружающей природной среды Республики Марий Эл.

Определение содержания пероксидных группировок (ПГ). Для определения содержания пероксидных группировок брали навеску свежего растительного материала массой 1 г и растирали в ступке с 7 мл К-Na-фосфатного буфера (0,15 М, рН 7,9). Для осаждения белка добавляли 0,7 мл трихлоруксусной кислоты (4,8 М). Гомогенат центрифугировали 10 мин при 8000 g и полученный супернатант использовали для определения содержания пероксидных группировок. Реакционная среда (6,6 мл) содержала: этанол (96%), концентрированную соляную кислоту (11,4 М), растворы соли Мора (0,18 М), роданида аммония (2,6 М) и 1 мл гомогената. Оптическую плотность определяли при длине волны 480 нм (Summer, 1943). Содержание пероксидных группировок рассчитывали в мкМолях H₂O₂ на грамм сырой массы (мкМоль H₂O₂·г⁻¹) Для построения калибровочной кривой, применяемой при расчетах, использовали H₂O₂ (10мМ). Измерения оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-103 (Россия).

В таблице представлены средние арифметические из 3 независимых экспериментов, каждый из которых проведен в 3-кратной биологической повторности, и их стандартные отклонения. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «STATISTICA». Достоверность различий обсуждалась при 5% уровне значимости.

Результаты и обсуждение. Растения, растущие в условиях урбанизированной среды, постоянно испытывают на себе действие техногенного загрязнения. Поэтому одним из важных факторов, влияющих на жизнеспособность зеленых насаждений в городских условиях, является их устойчивость к действию токсических соединений, загрязняющих окружающую среду.

Устойчивость растений к стресс-воздействиям в значительной степени определяется соотношением уровня АФК и активности АОС (Мерзляк, 1999). Одним из маркеров окислительного стресса является уровень содержания пероксидных группировок.

Концентрация пероксидных группировок в растительных клетках изменяется в зависимости от условий внешней среды, видовых особенностей, возраста и некоторых других факторов, что подтверждается данными (табл.), полученными нами в ходе исследования. По мере увеличения антропогенного воздействия на окружающую среду в ходе онтогенеза газонных растений происходило возрастание содержания пероксидных групп в вегетативных органах.

Т а б л и ц а

Изменение содержания пероксидных группировок в вегетативных органах газонных растений в условиях городской среды (мкМоль $H_2O_2 \cdot g^{-1}$ сырой массы)

Вид	Условно чистый район			Среднезагрязненный район			Загрязненный район		
	v	g2	ss	v	g2	ss	v	g2	ss
Листья									
Клевер ползучий	0,16± 0,002	0,13± 0,003	0,16± 0,001	0,18± 0,004	0,15± 0,002	0,19± 0,009	0,33± 0,006	0,3± 0,002	0,32± 0,014
Мятлик луговой	0,11± 0,004	0,09± 0,001	0,11± 0,003	0,13± 0,003	0,11± 0,001	0,12± 0,001	0,18± 0,003	0,15± 0,011	0,18± 0,006
Корни									
Клевер ползучий	0,22± 0,001	0,19± 0,004	0,24± 0,002	0,24± 0,006	0,22± 0,002	0,25± 0,004	0,48± 0,006	0,4± 0,002	0,46± 0,002
Мятлик луговой	0,09± 0,002	0,07± 0,001	0,09± 0,001	0,12± 0,003	0,09± 0,001	0,1± 0,001	0,16± 0,004	0,13± 0,001	0,14± 0,002

Наибольшее содержание пероксидных группировок в листьях отмечено у виргинильных особей клевера ползучего в загрязненном районе (табл.), что в 1,8-2 раза превышает данный показатель в парковой и контрольной зонах. У генеративных особей *T. repens* концентрация перекиси в промышленной зоне была наименьшей ($0,30 \text{ мкМ Н}_2\text{О}_2 \cdot \text{г}^{-1}$) по сравнению с другими возрастными группами, но также этот параметр возрос в 2-2,3 раза, чем в среднезагрязненном и условно чистом районах соответственно. Содержание пероксидных группировок у субсенильных растений клевера ползучего увеличивалось по мере усиления антропогенной нагрузки на среду и занимало промежуточное положение ($0,16-0,32 \text{ мкМ Н}_2\text{О}_2 \cdot \text{г}^{-1}$) по сравнению с v- и g2-особями.

У мятлика лугового во всех возрастных состояниях также происходило повышение концентрации перекисей с увеличением техногенного воздействия на местообитания (табл.). При этом высокие показатели были характерны для особей прегенеративного и постгенеративного развития, тогда как генеративные растения по сравнению с другими онтогенетическими состояниями во всех местах наблюдения имели более низкие значения. Но в целом содержание пероксидных групп в листьях *P. pratensis* по сравнению с *T. repens* было ниже в 1,4-2 раза.

Изучение концентрации гидропероксидов в подземных органах исследованных видов выявило аналогичную тенденцию (табл.): увеличение содержания перекисей по мере антропогенного загрязнения среды и двувершинный характер возрастания количества пероксидных групп в прегенеративном и постгенеративном периодах развития растений с падением его концентрации в генеративном периоде.

Содержание гидроперекисей в корнях клевера ползучего в контрольной зоне было меньше по сравнению с загрязненным районом города на 54,2% у виргинильных, 52,5% у средневозрастных генеративных и 47,9% у субсенильных особей. В парковой зоне увеличение показателей было незначительным (на $0,01-0,03 \text{ мкМ Н}_2\text{О}_2 \cdot \text{г}^{-1}$).

В контрольной зоне в корнях мятлика лугового концентрация пероксидных группировок в особях прегенеративного и постгенеративного периодах развития находилась на одном уровне и отличалась от значения, характерного для генеративных растений, на $0,02 \text{ мкМ Н}_2\text{О}_2 \cdot \text{г}^{-1}$. По мере увеличения загрязнения окружающей среды показатели пероксидных групп в корнях *P. pratensis* возрастали. В парковой зоне увеличение концентрации гидроперекисей было незначительным, а и в промышленном районе – в 1,5-1,85 раза.

При использовании трехфакторного дисперсионного анализа было установлено, что на содержание пероксидных группировок в

вегетативных органах *T. repens* и *P. pratensis* влияют все три фактора: вид (листья – $p < 10^{-6}$; корни – $p < 10^{-2}$), местообитание (листья – $p < 10^{-6}$; корни – $p < 10^{-2}$) и онтогенетическое состояние (листья – $p < 10^{-6}$; корни – $p < 10^{-2}$).

Заключение. Таким образом, одной из первоначальных реакций газонных растений при воздействии стресс-факторов является активизация процесса перекисного окисления липидов. По мере усиления антропогенного загрязнения окружающей среды в ходе онтогенеза газонных растений происходило увеличение содержания пероксидных группировок в вегетативных органах. Наиболее высокие показатели были характерны для особей клевера ползучего во всех онтогенетических состояниях, т.е. растения находятся в состоянии окислительного стресса. Для мятлика лугового в одинаковых условиях местообитания не наблюдалось существенных различий в показателях содержания гидропероксидов. Уровень образования пероксидных группировок на разных этапах онтогенеза находился в стабильном состоянии. В целом, по сравнению с листьями, содержание перекиси в корнях клевера ползучего было выше в 1,3-1,5 раза, а у мятлика лугового, наоборот, концентрация гидропероксидов была выше в листьях в 1,08-1,28 раза.

Возможно, что высокое содержание пероксидных группировок в корнях клевера ползучего по сравнению с листьями, сопряжено с более низкой, чем в листьях, активностью антиоксидантных ферментов. А у мятлика лугового очевидно наблюдается обратный эффект: высокая антиоксидантная активность в листьях по сравнению с корнями (Половникова, 2007; Половникова, Воскресенская, 2008; Половникова, 2010). Поддержание АФК на необходимом и безопасном для клетки уровне, исключая потенциальное окислительное повреждение, является жизненной стратегией растения и реализуется с помощью многокомпонентной антиокислительной системы защиты.

Список литературы

- Барабой В.А. 1992. Перекисное окисление и стресс. СПб.: Наука. 148 с.
- Духовский П., Дкнис Р., Бразайтите А., Жукаускайте И. 2003. Реакция растений на комплексное воздействие природных и антропогенных стрессов // Физиология растений. Т. 50. № 2. С. 165-170.
- Жукова Л.А. 1995. Популяционная жизнь луговых растений. Йошкар-Ола: РИИК «Ланар». 224 с.
- Карапетян А.В., Мкртчян Н.И. 1996. Fe-содержащая супероксиддисмутаза из *Pseudomonas aeruginosa* // Биохимия. Т. 61. Вып. 8. С. 1408-1413.
- Мерзляк М.Н. 1999. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Соросовский образовательный журнал. № 9. С. 20-26.

- Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х.* 2003. Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе // Физиология растений. Т. 50. № 3. С. 459-464.
- Михайлова И.Д., Лукаткин А.С.* 2016. Перекисное окисление липидов в растениях огурца и редиса при действии тяжелых металлов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. Т. 16. Вып. 2. С. 206-210.
- Полесская О.Г., Каширина Е.И., Алехина Н.Д.* 2006. Влияние солевого стресса на АОС растений в зависимости от условий азотного питания // Физиология растений. Т. 53. № 2. С. 207-214.
- Половникова М.Г., Воскресенская О.Л.* 2008. Изменение активности компонентов системы антиоксидантной защиты и полифенолоксидазы у газонных растений на разных этапах онтогенеза в условиях городской среды // Физиология растений. Т. 55. № 5. С. 777-785.
- Половникова, М.Г.* 2007. Эколого-физиологические особенности газонных растений на разных этапах онтогенеза в условиях городской среды: дис... канд. биол. наук. Нижний Новгород: Нижегородский гос. университет им. Н.И. Лобачевского. 176 с.
- Половникова, М.Г., Половникова, Е.Г.* 2010. Содержание пероксидных группировок и потенциальная способность образования свободных радикалов газонными растениями в условиях городской среды // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства: Мосоловские чтения: материалы международной научно-практической конференции. Вып. XII. С. 86-87.
- Стивак Е.А.* 2010. Генерация активных форм кислорода, перекисное окисление липидов и проницаемость клеточных мембран в листьях проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) при засухе // Вестник БГУ. Сер. 2. № 1 С. 51-54.
- Хавинсон В.Х., Баринов В.А., Арутюнян А.В., Малинин В.В.* 2003. Свободнорадикальное окисление и старение. СПб: Наука. 327 с.
- Ясар Ф., Элиальтиглу С., Ильдис К.* 2008. Действие засоления на антиокислительные защитные системы, перекисное окисление липидов и содержание хлорофилла в листьях фасоли // Физиология растений. Т. 55. № 6. С. 869-873.
- Sumner R.J.* 1943. Lipoid Oxidase Studies – a Method for the Determination of Lipooxidase Activity // Ind. Eng. Chem. V. 15. P. 14-15.
- Van Breusegem F., Vranova E., Dat J., Inze D.* 2001. The Role of active oxigenspecies in plant signal transduction // Plant Sci. V. 161. P. 405-414.

THE CONTENT OF PEROXIDE GROUPS IN THE VEGETATIVE ORGANS OF SEED PLANTS IN THE URBANIZED ENVIRONMENT

M.G. Polovnikova¹, O.L. Voskresenskaya²

¹Kuban State University of Physical Education, Sport and Tourism, Krasnodar

²Mari State University, Yoshkar-Ola

We determined the content of peroxide groups (PG) in the vegetative organs of lawn plants (*Trifolium repens* L., *Poa pratensis* L.) grown in the urban conditions. Plants of three age groups: virginile (v), middle-aged generative (g₂) and subsenile (ss), were used. The content of peroxide groups in the leaves and roots of lawn plants increased with an increase of the pollution. *T. repens* showed the maximum concentration of the peroxide groups in the roots, while *P. pratensis* had the maximum concentration of the peroxide groups in the leaves.

Keywords: *Trifolium repens*, *Poa pratensis*, ontogenesis, urban environment, pollution, the peroxide group.

Об авторах:

ПОЛОВНИКОВА Марина Григорьевна – кандидат биологических наук, старший преподаватель, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма», 350015, Краснодар, ул. им. Буденного, 161, e-mail: marinapmg@rambler.ru.

ВОСКРЕСЕНСКАЯ Ольга Леонидовна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой экологии, директор института естественных наук и фармации ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет», 424002, Республика Марий Эл, Йошкар-Ола, ул. Осипенко, 60, e-mail: voskres2006@rambler.ru.

Половникова М.Г. Содержание пероксидных группировок в вегетативных органах газонных растений в условиях урбанизированной среды / М.Г. Половникова, О.Л. Воскресенская // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2018. № 4. С. 242-249.