

И.И. Коршиков, Е.Н. Виноградова

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ *POPULUS DELTOIDES* MARSCH. В УСЛОВИЯХ РТУТНОГО КОМБИНАТА

ртутный комбинат, *Populus deltoides*, накопление ртути в листьях, физиолого-биохимические показатели, корреляционные связи

Традиционный подход к изучению влияния выбросов промышленных производств на растения основан на определении в их органах отдельных метаболических показателей и сопоставлении их изменений в зависимости от уровня загрязнённости среды. Обычно такие исследования проводят на выборках растений из разноудалённых от источника эмиссий природных популяций или насаждений, отбирая усреднённые образцы, как правило, листьев для дальнейших анализов. Это дает возможность выяснить характер и направленность функциональных изменений у растений в зависимости от степени аэротехногенной нагрузки [3, 9]. Однако получаемые таким образом результаты несут в себе и элементы случайности. На выраженность физиолого-биохимических показателей листьев влияют местообитания и генетическая неоднородность растений. Кроме того, в таких сравнительных исследованиях всегда возникает проблема выбора контроля. Уровень случайности можно существенно снизить, если изучать динамику индивидуальных изменений в процессе вегетации у одновозрастных генетически однородных растений, совместно произрастающих в зоне влияния аэротехногенных выбросов. Использование этого альтернативного подхода позволяет выяснить амплитуду функциональных изменений у растений в процессе адаптации и (или) по мере развития патологии в их поврежденных аэрополлютантами органах. При этом важно анализировать не только фактурные изменения физиолого-биохимических показателей, но и степень их скоррелированности в зависимости от повреждённости ассимиляционных органов и уровня аккумуляции в них токсичных веществ, поступающих из загрязненной среды [3]. Это повышает объективность оценок характера происходящих в органах растений процессов.

Реализуя этот подход, мы ранее изучили у тополя канадского (*Populus deltoides* Marsch.), совместно произрастающего в аллеиной посадке на однородном участке ртутного комбината, индивидуальную динамику в процессе вегетации физиолого-биохимических показателей и содержания ртути [9]. Главный акцент в этой работе был сделан на выяснении характера изменений физиолого-биохимических показателей в зависимости от индивидуальной устойчивости растений к выбросам комбината. Другой немаловажный аспект – исследование зависимости происходящих изменений от уровня накопления ртути в листьях и развития их повреждений в процессе вегетации растений не был сделан. А такой анализ крайне необходим, так как расширяет информативную базу о влиянии эмиссий комбината на растения и раскрывает важные стороны механизмов устойчивости растений к аэрополлютантам.

Цель работы – определение амплитуды изменений и корреляционных связей физиолого-биохимических показателей в листьях *P. deltoides* в процессе вегетации в условиях ртутного комбината.

В опыте использовали 12 деревьев 15-летнего возраста, компактно произрастающих на территории Никитского ртутного комбината (г. Горловка) в 200 м от его основных цехов. Различия по габитусу между растениями были незначительными, более существенно они

отличались по степени повреждения листьев в конце вегетации. Для лабораторных анализов были проведены три отбора (1988 г., июнь, июль, сентябрь) проб листьев с каждого растения в течение вегетационного периода. В отобранных пробах определяли содержание ртути, хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, суммы каротиноидов и соединений, реагирующих с 2-дифенилбарбитуровой кислотой (ТБК-АС), анализировали изменения пероксидазной активности (ПО) в свободной и ионносвязанной фракциях, а также супероксиддисмутазную активность (СОД) по общепринятым методикам. На основе индивидуальных показателей растений рассчитывали средние значения для совокупной выборки и коэффициенты их вариации (CV, %). В отобранных пробах листьев анализировали корреляционные связи всех изучаемых показателей. Достоверно зависимой считали связь при значениях коэффициента корреляции (r) больше 0,58 при $P < 0,05$ и числе степеней свободы, равном 10 [4]. Проводили также попарное сравнение деревьев для выяснения количества пар в совокупной выборке, имеющих достоверные различия по каждому изучаемому показателю.

Анализ сезонной динамики изменений изучаемых показателей свидетельствует (табл.1), что в сильно повреждённых листьях в сентябре в сравнении с незначительно повреждёнными листьями в июне содержание ртути увеличивается на 1,68 мг/кг сухого веса, то есть на 101,2%, на 63,8% увеличивается содержание ТБК-АС, повышается на 42,7% соотношение хлорофилл *a* / хлорофилл *b* и на 19,6% - пероксидазная активность ионносвязанной фракции. Средние значения остальных показателей снижаются: содержание хлорофилла *b* - на 65,5%, хлорофилла *a* - на 52,6%, суммы хлорофиллов - на 48,7%, суммы каротиноидов - на 48,4%, активность СОД падает почти в 2 раза, а ПО в свободной фракции снижается только на 15,5%. В литературе многократно отмечалось повышение активности ПО в листьях растений под влиянием стресса, в том числе и связанного с техногенным загрязнением среды [3]. Однако есть много сведений о неоднозначности ответных реакций пероксидазной системы на разнообразные воздействия вследствие высокой индивидуальной гетерогенности растений и неспецифичности ответных реакций фермента [2]. Изменение активности ПО в листьях растений по мере накопления в них ртути может быть связано с антагонизмом ионов ртути и кальция. Известно, что снижение содержания ионов кальция в клетках сопровождается уменьшением количества свободных фракций ПО и падением её удельной активности [10]. Снижение активности СОД в листьях в процессе вегетации *P. deltoides* в условиях ртутного комбината, возможно, сопряжено с токсическим действием ионов ртути, так как установлено, что у растений, выращенных на питательных растворах, содержащих ртуть, активность СОД в листьях снижалась [3, 10]. Ингибирование активности СОД происходит под действием ионов ртути, что, по-видимому, способствует индукции супероксидных радикалов и интенсификации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [10]. Резкое снижение содержания пигментов в повреждённых эмиссиями ртутного комбината листьях *P. deltoides*, сопровождаемое заметным повышением уровня ТБК-АС и снижением активности СОД, по-видимому, не только результат прямого действия поллютантов, но и следствие активации в клетках листьев процессов ПОЛ. Супероксиддисмутаза и пероксидаза, обезвреживая свободные радикалы и пероксиды, защищают клетки организма от повреждений вследствие развития ПОЛ [1, 6] и способствуют поддержанию их гомеостаза при воздействии разнообразных стрессовых факторов, в том числе и при поступлении в клетки тяжёлых металлов [5, 7].

Дальнейший анализ полученных данных направлен на раскрытие закономерностей возникновения дисбаланса функциональных связей в листьях *P. deltoides*, повреждённых выбросами ртутного комбината. В процессе вегетации растений существенно изменяются соотношения между максимальными и минимальными значениями семи из десяти

Таблица 1. Изменчивость физиолого-биохимических показателей листьев *Populus deltoides* Marsch. в процессе вегетации в условиях ртутного комбината

Показатель		Содержание						Хлорофилл		Активность ферментов, у.е./мг белка		
		ртути, мг/кг сух. веса	ТБК-АС, мкмоль/г сыр. в-ва	пигментов, мг/г сух. веса			а)	б)	пероксидазная фракция	ионов-заянная фракция	супер-оксид-лисмутазная	
Время отбора листьев		хлорофилла а	хлорофилла б	суммы хлорофиллов а и б	каротиноидов	хлорофилл а	хлорофилл б	свободная фракция	ионов-заянная фракция	супер-оксид-лисмутазная		
		Июнь	Min	1,25±0,06	0,62±0,03	3,25±0,02	1,63±0,03	4,88±0,05	0,89±0,03	1,52	0,92±0,03	0,48±0,02
Max	1,90±0,03		1,59±0,06	5,32±0,11	3,44±0,07	8,76±0,17	1,56±0,06	1,99	3,41±0,07	2,57±0,20	56,25±0,96	
Среднее	1,66±0,11		1,16±0,20	4,41±0,34	2,52±0,30	6,93±0,65	1,26±0,10	1,78±0,09	2,13±0,43	1,12±0,33	22,41±8,62	
M±m												
CV, %	11,87		30,94	13,92	21,22	16,54	15,2	8,98	36,08	52,58	67,96	
Июль	Кол-во достоверно различающихся пар деревьев	30	46	47	43	46	27		48	48	55	
	Min	1,32±0,10	0,76±0,05	3,14±0,17	1,71±0,09	4,88±0,26	0,73±0,21	1,74	1,17±0,01	1,10±0,02	4,52±0,71	
	Max	1,95±0,07	1,67±0,07	4,66±0,08	2,68±0,08	7,34±0,15	1,23±0,02	2,07	3,96±0,07	3,62±0,08	17,70±0,21	
	Среднее	1,74±0,11	1,31±0,17	3,92±0,3	2,13±0,19	6,06±0,49	0,9±0,06	1,85±0,05	2,45±0,43	2,12±0,51	10,88±2,17	
	M±m											
Сентябрь	CV, %	11,26	23,52	13,58	16,11	14,21	11,79	4,68	31,23	42,08	35,18	
	Кол-во достоверно различающихся пар деревьев	22	40	46	33	42	25		51	52	48	
	Min	2,56±0,05	1,51±0,03	1,50±0,17	0,48±0,10	4,58±0,26	0,42±0,02	1,47	0,60±0,04	0,87±0,04	5,06±0,65	
	Max	4,04±0,07	2,24±0,05	2,56±0,03	1,62±0,05	4,06±0,04	0,85±0,03	3,13	3,60±0,67	1,81±0,04	24,36±0,86	
	Среднее	3,34±0,24	1,90±0,12	2,09±0,18	0,87±0,18	2,86±0,37	0,65±0,08	2,54±0,3	1,80±0,40	1,34±0,21	11,88±2,95	
M±m												
CV, %	12,61	11,2	15,07	35,31	22,95	22,95	21,15	39,47	27,22	43,84		
Кол-во достоверно различающихся пар деревьев	49	41	47	45	53	28		52	48	56		

анализируемых показателей (см. табл. 1). При этом индивидуальные различия таких показателей, как содержание ТБК-АС, активность ПО ионносвязанной фракции и СОД заметно снижаются, а содержание хлорофилла *b*, суммы хлорофиллов и их соотношение, а также активность ПО в свободной фракции возрастают. В сентябре значимо возрастает вариабельность только четырёх из десяти анализируемых показателей. В частности, значения CV в сентябре в сравнении с июнем повышаются для соотношения хлорофилл *a* / хлорофилл *b* на 135%, для содержания хлорофилла *b* - на 66,4%, суммы каротиноидов - на 51% и суммы хлорофиллов - на 38,8%. При этом снижаются значения CV для таких показателей, как содержание ТБК-АС (63,8%), пероксидазная активность ионносвязанной фракции (48,2%) и супероксиддисмутазная активность (35,5%). В процессе вегетации растений слабо изменяется CV для таких показателей, как содержание ртути и хлорофилла *a* в листьях, а также ПО активность свободной фракции.

Индивидуальная динамика аккумуляции ртути в листьях 12 изучаемых деревьев *P. deltooides* в процессе вегетации в условиях ртутного комбината достаточно синхронизирована. Это подтверждают практически одинаковые (см. табл. 1) значения коэффициентов вариации содержания ртути в листьях растений в июне - сентябре и мало изменяющиеся значения соотношения максимального и минимального индивидуальных уровней накопления ртути в июне (1,52), июле (1,48) и сентябре (1,58). И всё же в сентябре различия между деревьями по уровню накопления ртути в листьях проявляются больше, чем в июне. Это подтверждает увеличивающееся в сентябре количество пар деревьев, достоверно различающихся по содержанию ртути в листьях; в июне таких пар было 30 из 66 возможных, или 45,5 %, а в сентябре их было 49, что составило 74,2 %. Характерно, что количество пар деревьев с достоверными отличиями по остальным изучаемым показателям мало изменялось в процессе наблюдений. Этот факт может указывать на определённую синхронизацию индивидуальных изменений физиолого-биохимических показателей растений в условиях ртутного комбината. Это подтверждает проведённый ранее анализ индивидуальной и групповой динамики изменений этих показателей в процессе вегетации [9]. Повышение содержания ртути в листьях растений в сентябре связано с сокращением амплитуды индивидуальных изменений показателей, характеризующих интенсивность процессов ПОЛ. Это, в первую очередь, касается содержания ТБК-АС, а также активности ферментов, защищающих клетку от перекисных соединений и свободных радикалов.

Корреляционный анализ показывает, что в процессе вегетации *P. deltooides* в условиях ртутного комбината, по мере развития повреждений листьев, снижается зависимость между изучаемыми показателями (табл. 2). В начале июня, когда у деревьев ещё чётко не проявлялись визуальные признаки повреждения листьев, обнаружено 15 значимых корреляционных связей, а в повреждённых листьях в июле и в сентябре оставалось только 7 таких связей. По литературным данным, в случае адаптации растений к условиям загрязнённой среды, количество значимых корреляционных связей может возрастать. Это объясняют тем, что инициация адаптивных реакций растений способствует повышению единообразия протекания всех биохимических процессов [8].

В начале июня больше половины значимых корреляционных связей (8 из 15) приходилось на долю ПО (см. табл. 2). Так, высокая положительная корреляция установлена для активности обеих фракций фермента и содержания хлорофиллов *a* и *b*, а также их суммы, а минимально значимая - для свободной фракции фермента с содержанием каротиноидов и ртути. В повреждённых листьях в июле эти связи были разрушены, а в сентябре минимальная положительная связь ($r = 0,62$) установлена между активностью свободной фракции ПО и

Таблица 2. Изменение структур корреляционных связей физиолого-биохимических показателей листьев *Populus deltoids* Marsch. в условиях рутного комбината

Физиолого-биохимический показатель	Содержание						
	ртути	ТБК-АС	пигментов				
			хлорофилла <i>a</i>	хлорофилла <i>b</i>	сумма хлорофиллов <i>a</i> и <i>b</i>	каротиноидов	
ТБК-АС	0,69** 0,96***	-	-	-	-	-	
хлорофилл <i>b</i>	-	-	0,94* 0,97** 0,61***	-	-	-	
сумма хлорофиллов <i>a</i> и <i>b</i>	-	-	0,98* 0,99** 0,83*	0,98* 0,99** 0,83*	-	-	
каротиноиды	-0,64*	-	0,78* 0,75**	0,75* 0,82**	0,78* 0,78**	-	
Пероксидазная активность	-0,66	-	свободная фракция	0,81*	0,65*	0,75*	0,60*
			ионносвязанная фракция	0,74*	0,62**	0,81*	-
Супероксиддисмутазная активность	-0,77***	0,60***	-	-	-	-	

Примечание. Коэффициенты корреляции достоверны при $p < 0,05$, в остальных случаях (прочерк) – связи недостоверны; * – листья для анализов отобраны в июле, ** – в июле, *** – в сентябре.

содержанием хлорофилла *b*. Только в сентябре, при накоплении значительного количества ртути и ТБК-АС в листьях растений, обнаружена значимая корреляция между уровнем содержания этих веществ и активностью СОД. Необходимо отметить достоверную положительную корреляцию между содержанием ртути и ТБК-АС в листьях растений в июле и сентябре, причём в сентябре корреляционная связь была достаточно сильной, близкой к функциональной ($r = 0,95$), что подтверждает предположение об активации ПОЛ при накоплении определённого уровня ртути в листьях *P. deltoides* [3, 9].

Для неповреждённых листьев *P. deltoides* в июне существенная доля значимых корреляций приходится на взаимосвязь пигментов между собой, 6 из 15 выявленных случаев. Эта связь сохраняется и в повреждённых листьях в июле, причём структура корреляционных связей остаётся неизменной. Это сильная, близкая к функциональной ($r > 0,9$), положительная взаимосвязь между хлорофиллами *a* и *b*, а также их суммой и значительная положительная связь ($r > 0,7$) между каротиноидами и хлорофиллами. У сильно повреждённых листьев в сентябре минимально значимая корреляционная связь ($r = 0,61$) сохраняется между хлорофиллами *a* и *b* и более высокая между каждым из них и их суммой. Как известно, деградация пигментного комплекса и снижение биосинтеза хлорофилла в конце вегетации – закономерные симптомы старения листьев [3]. У *P. deltoides* в условиях ртутного комбината это проявляется также в снижении степени функциональных связей между пигментами.

Таким образом, у *P. deltoides* в условиях ртутного комбината наибольшее количество значимых корреляционных связей между исследуемыми физиолого-биохимическими показателями выявлено в июне, когда листья ещё не имели видимых симптомов повреждения. В первой половине вегетации растения ещё сохраняют свои адаптивные возможности к действию эмиссий ртутного комбината и поступлению в ткани и клетки листьев ртути и других токсических веществ. Это подтверждается сбалансированностью функциональных систем листьев. Развитие во второй половине вегетации повреждений листьев сопровождается угнетением этих систем и разрушением выявленных корреляционных связей физиолого-биохимических показателей. Причиной этого может быть как прямое действие токсичных эмиссий ртутного комбината, так и хроническое накопление ртути и других токсикантов в листьях, превышающее порог защитных механизмов клетки. В совокупности это приводит к ингибированию антиоксидантной системы, выражающемуся в снижении активности СОД и содержания каротиноидов в листьях, что способствует активации ПОЛ и усиливает повреждающее действие аэрополлютантов ртутного комбината, особенно во второй половине вегетации растений.

1. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. – 1991. – 111, № 6. – С 922-930.
2. Едрева А. Стресс и патогенез у растений – участие пероксидазной системы и эндогенных элиситоров // Генетика и селекция. – 1989. – 22, № 4. – С. 354-365.
3. Коршиков И.И., Котов В.С., Михеенко И.П. и др. Взаимодействие растений с техногенно загрязнённой средой. – Киев: Наук. думка, 1995. – 190с.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1973. – 343 с.
5. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи соврем. биологии. – 1993. – 113, № 4. – С. 442-455.
6. Платонова А.А., Костышин С.С. Содержание малонового диальдегида и активность антиоксидантных ферментов в проростках гороха при воздействии ионов кадмия // Физиология и биохимия культ. растений. – 2000. – 32, №2. – С 146-150
7. Поберёзкина Н.Б., Осинская Л.Ф. Биологическая роль супероксиддисмутазы // Укр. биохим. журн. – 1989. – 61, № 2. – С.14-27.

8. Шумейко П.Г., Осипов В.И. Влияние атмосферного загрязнения на корреляционные связи между биохимическими показателями деревьев на примере сосны обыкновенной // Успехи соврем. биологии. – 1993. – 113, №4 – С. 507-510.
9. Тарабрин В.П., Коршиков И.И., Котов В.С и др. Устойчивость тополя канадского к выбросам ртутного комбината // Интродукция и акклиматизация растений. – 1993. – Вып. 18. – С. 39-45.
10. Reddy S. V. K., Vijaya K., Venkaiah B. Effect of Heavy metals on superoxide dismutase activity in Pennisetum typhoideum seedlings // Curr. Sci. (India). – 1988. 57, № 12. – P. 664 – 665.

Донецкий ботанический сад НАН Украины

Получено 26.01.2004

УДК 581.17: 581.19: 582.623

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ *POPULUS DELTOIDES* MARSCH. В УСЛОВИЯХ РТУТНОГО КОМБИНАТА

И.И. Коршиков, Е.Н. Виноградова

Донецкий ботанический сад НАН Украины

У тополя канадского (*Populus deltoides* Marsch.) в условиях ртутного комбината выявлена высокая прямая корреляционная связь между аккумуляцией ртути в листьях и содержанием ТБК – активных соединений. В первой половине вегетационного периода установлено 15 случаев значимых корреляционных связей изучаемых показателей, а во второй половине – 7. Развитие повреждений листьев во второй половине вегетации растений сопровождается разрушением сопряженности взаимосвязи их функциональных систем.

UDC 581.17: 581.19:582.623

CORRELATIONAL CONNECTIONS BETWEEN PHYSIOLOGIC-AND-BIOCHEMICAL INDICES *POPULUS DELTOIDES* MARSCH UNDER THE CONDITIONS OF MERCURY PROCESSING WORKS.

I. I. Korshikov, E. N. Vinogradova

Donetsk Botanical Gardens, Nat. Acad. Sci. of Ukraine

In eastern cottonwood (*Populus deltoides* Marsch.) growing under conditions of mercury processing integrated works, high direct correlational connection has been revealed between mercury accumulation and TBA-active combinations in leaves. During the first part of plants vegetation period, 15 cases of significant correlational connections between the indices studied have been determined, and during the second vegetation part – 7 cases. The development of leaves lesions in the second part of vegetation is accompanied by destruction of interconnections conjugacy between their functional systems.