

* * *

УДК 581.51

DOI 10.17816/snv202112

Статья поступила в редакцию 04.04.2020

ВЛИЯНИЕ НАСАЖДЕНИЙ *PINUS SYLVESTRIS* L. НА АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

© 2020

Колмогорова Елена Юрьевна, кандидат биологических наук,
научный сотрудник лаборатории рекультивации и биомониторинга
Цандекова Оксана Леонидовна, кандидат сельскохозяйственных наук,
научный сотрудник лаборатории рекультивации и биомониторинга
Институт экологии человека Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН
(г. Кемерово, Российская Федерация)

Аннотация. В статье представлены результаты содержания некоторых компонентов антиоксидантной системы (аскорбиновой кислоты и пероксидазы) в листьях бобовых растений, произрастающих под насаждениями *Pinus sylvestris*, в течение вегетационного периода. Объектом исследований служили донник лекарственный и амория ползучая. Содержание аскорбиновой кислоты определяли титриметрическим методом, активность пероксидазы – методом спектрофотометрии. Активность компонентов антиоксидантной системы в листьях бобовых растений, произрастающих под насаждениями *P. sylvestris*, зависели от видовых особенностей и периода вегетации растений. Активность пероксидазы в течение вегетации в листьях амории ползучей выше, чем в листьях донника лекарственного. По мере роста и развития растений уровень пероксидазы возрастает. По содержанию аскорбиновой кислоты в листьях бобовых растений выявлена обратная зависимость. Исследуемые образцы характеризовались наименьшей вариабельностью по содержанию аскорбиновой кислоты, в сравнении с активностью пероксидазы. У донника лекарственного разрыв в изменчивости аскорбиновой кислоты уменьшался в 1,4 раза в сравнении с аморией ползучей. Наиболее тесная отрицательная связь у бобовых растений обнаружена между активностью пероксидазы и органическим веществом, подвижным фосфором; между пероксидазой и суммой поглощенных оснований отмечена положительная корреляция, что указывает на возможность использования полученных данных в качестве диагностических признаков состояния растений для мониторинга природных экосистем.

Ключевые слова: бобовые растения; донник лекарственный; амория ползучая; листья; вегетация; пероксидаза; аскорбиновая кислота; антиоксидантная система; *Pinus sylvestris* L.; Кедровский угольный разрез; агрохимический состав почв; корреляция; экологический мониторинг; Кузбасский ботанический сад; Кемерово; Кемеровская область.

Введение

Насаждения *Pinus sylvestris* L., изменяя водный, тепловой и световой режим биогеоценоза, негативно влияют на растительность нижних ярусов. Для подкрановой зоны сосны характерны сглаженный температурный режим, низкая освещенность, формирование обильного подроста и накопление подстилки. В прикрановой зоне с высокой увлажненностью формируется развитый моховой покров, очень низкое развитие подроста. Внешняя зона характеризуется развитым травянистым покровом, обилием видов и куртинным размещением подроста *P. sylvestris* L. Аллелопатические ингибирующие эффекты сосны обыкновенной воздействуют на рост и развитие травянистых растений и описаны многими исследователями [1–4]. В первую очередь происходят физиолого-биохимические изменения в растениях, при этом повреждаются мембранные структуры и активизируются многие компоненты антиоксидантной защиты. Среди них особое место занимают низкомолекулярные антиоксиданты, в том числе аскорбиновая кислота и пероксидаза. В последнее десятилетие в научных журналах активизирована публикация работ, связанных с изучением содержания антиоксидантов в растениях [5–11]. Некоторые авторы отмечают повышение активности пероксидазы при окис-

лительном стрессе, в том числе в листьях бобовых растений [12–14]. Существенное влияние на содержание вторичных метаболитов в тканях растений оказывают сезонные стадии развития растений и их возраст. Молодые растения накапливают наибольшее количество вторичных метаболитов по сравнению с растениями репродуктивного возраста [15]. Содержание аскорбиновой кислоты в бобовых растениях по мере их роста и развития постепенно увеличивается, т.к. усиливаются синтетические процессы в листьях, связанные с образованием репродуктивных органов растений [16–18]. В период цветения и плодоношения концентрация аскорбиновой кислоты в листьях резко падает. Максимальное количество аскорбиновой кислоты содержится в наиболее активных частях растений: в листовой пластинке и молодой завязи, в подземных частях её мало или вовсе нет [19]. Однако недостаточно сведений о влиянии сосны обыкновенной на активность антиоксидантов у бобовых растений в природных экосистемах.

Цель работы – оценка влияния насаждений *Pinus sylvestris* L. на активность компонентов антиоксидантной системы у бобовых растений.

Объекты и методы исследований

Объектом исследований служили растения семейства бобовых (Fabaceae) – донник лекарственный

(*Melilotus officinalis* L.) и амория ползучая (*Amorpha repens* (L.) С. Presl.). Эксперимент проведен в летний период 2018–2019 гг. на территории Кузбасского ботанического сада. Поставлен вегетационный опыт методом Фитомеров – выращивание контрольных видов растений в лизиметрах с устранением эффекта других факторов среды (освещенности, увлажнения, прямой конкуренции и др.). Пробы почв были взяты в фитогенных зонах *Pinus sylvestris* L., произрастающей на территории породного отвала Кедровского угольного разреза: подкроновая – ПП 1, прикромовая – ПП 2. Преобладающей фракцией почв на отвале являются крупные агрегаты (от 3 до 10 и более мм), содержание мелких частиц снижено. В качестве контроля взята внешняя зона – ПП 3 (к), отдельно растущей сосны обыкновенной. В почву каждой зоны высевали по 100 семян бобовых растений. Отбор проб для анализа отбирали по фазам вегетации: начало вегетации, ветвление, бутонизация, цветение и плодоношение.

Климатические условия вегетационного периода 2018 года характеризовались понижением температуры воздуха (ниже нормы на 4,2°C) и увеличением влажности (198% от нормы) в начале и в середине вегетации (температура ниже нормы на 1,0°C, влажность – 153% от нормы). К концу вегетационного периода среднемесячная температура составила +9,6°C, что превысило норму на 1,1°C, осадков выпало 51 мм (124% от нормы). В 2019 году отмечалось также понижение температуры воздуха в начале и середине вегетации. В мае среднемесячная температура воздуха составила +10,1°C, что ниже нормы на 1,1°C. Осадков выпало 39 мм (99% от нормы). В июле отмечалось понижение температуры (на 0,4°C ниже нормы), в августе – ее повышение (на 1,7°C выше нормы). Осадков выпало в этот период 64–70 мм, что составило 97–103% от нормы.

На проростках определяли содержание аскорбиновой кислоты титриметрическим методом с применением 2,6-дихлорфенолиндофенола натрия [20]; активность пероксидазы – методом А.Н. Бояркина [21]. Повторность опытов трехкратная из смешанной пробы. Данные представлены в виде средних арифметических значений и их среднеквадратических (стандартных) ошибок, рассчитан коэффициент вариации, проведен корреляционный анализ. Экспериментальные данные обработаны статистически с помощью компьютерных программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 10.

Результаты и их обсуждение

Агрохимический состав почв является одним из наиболее существенных факторов, оказывающих глубокое влияние на обмен веществ в растениях. Результаты агрохимических анализов показали, что почвы на площадках наблюдений характеризовались нейтральной реакцией солевой вытяжки (рН 6,5–7,1) (табл. 1). Согласно шкале Ф.В. Чирикова [22], обеспеченность подвижными формами фосфора: на всех площадках характеризуется как низкая и варьирует в пределах 24–49 мг/кг. Отмечается тенденция увеличения содержания подвижного фосфора по мере увеличения от внешней зоны фитогенных полей к внутренним.

Содержание общего азота на всех ПП по шкале Г.П. Гамзикова [23] варьирует от 0,31 до 0,38%, сумма поглощенных оснований – 21,6–48,4 ммоль/100 г, обменного калия – в пределах 160–180 мг/кг и соответствует высокому уровню [24], причем в прикромовой зоне отмечены минимальные показатели. Содержание органического вещества соответствует уровню высокогумусных почв и составляет 11,4–14,1%.

Сравнительный анализ агрохимических показателей почвы под насаждениями *P. sylvestris* показал, что рН сдвигается в нейтральную сторону, а более высокие показатели изучаемых параметров (подвижный фосфор, обменный калий, азот общий, органическое вещество) характерны для пробных площадок под деревьями подкромовой и прикромовой зон, в сравнении с контролем. Известно, что со снижением содержания гумуса в почве следует снижение содержания азота, и наоборот. Так, в прикромовой зоне отмечен максимальный уровень органического вещества – 14,1%, при этом массовая доля общего азота составила 0,38%; во внешней зоне – минимальный уровень органического вещества (11,4%), доля общего азота – 0,31%.

Важная роль в период роста и развития растений принадлежит вторичным метаболитам – пероксидазе и аскорбиновой кислоте, которые принимают участие в процессах фотосинтеза и дыхания. Анализ проведенных исследований показал, что активность пероксидазы и содержание аскорбиновой кислоты в листьях бобовых растений, произрастающих в различных фитогенных зонах *P. sylvestris*, зависели от видовых особенностей и вегетационного периода растений.

Ферментативная активность в течение вегетации в листьях амории ползучей выше, чем в листьях донника лекарственного. По мере роста и развития растений уровень пероксидазы возрастает (рис. 1).

Таблица 1 – Агрохимические показатели почвы на исследуемых площадках (глубина отбора проб 0–20 см)

Наименование показателей	Подкромовая зона	Прикромовая зона	Внешняя зона (контроль)
рН _{солевая} , ед. рН	6,6 ± 0,1	6,5 ± 0,1	7,1 ± 0,1
Органическое вещество, %	13,7 ± 1,4	14,1 ± 1,4	11,4 ± 1,1
P ₂ O ₅ , мг/кг	49 ± 7	41 ± 6	24 ± 4
K ₂ O, мг/кг	180 ± 18	160 ± 16	165 ± 17
N общий, %	0,35 ± 0,02	0,38 ± 0,03	0,31 ± 0,02
Сумма поглощенных оснований, ммоль/100 г	29,6 ± 4,4	21,6 ± 3,2	48,4 ± 7,3

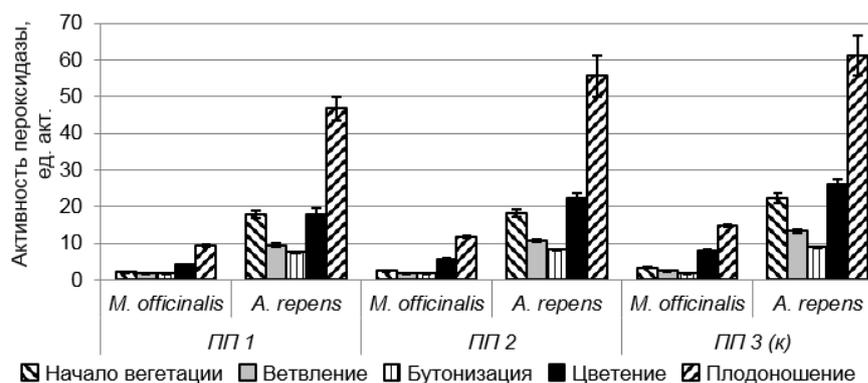


Рисунок 1 – Динамика активности пероксидазы в листьях бобовых растений в течение вегетации

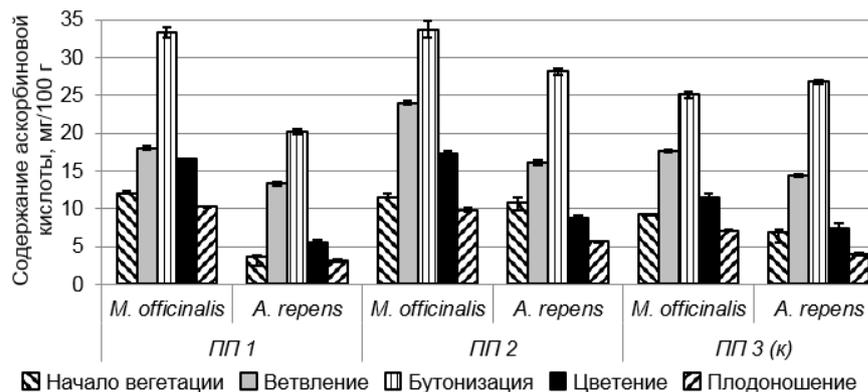


Рисунок 2 – Содержание аскорбиновой кислоты в листьях бобовых растений в течение вегетации

У донника лекарственного в начале вегетации, во время активного роста листьев, происходит снижение активности пероксидазы до фазы бутонизации (от 3,34 до 1,70 ед. активности), затем, по мере старения листьев – ее увеличение (до 14,65 ед. активности). У амории ползучей отмечена такая же закономерность.

Сравнительная характеристика исследуемых растений на пробных площадках показала некоторые отличия по ферментативной активности. Минимальные показатели отмечены у бобовых растений в подкрановой зоне (ПП 1), их варьирование составило у донника лекарственного от 1,70 до 9,26, у амории ползучей – 7,71–46,67 ед. активности, что ниже в среднем на 25–38% относительно контроля.

Содержание аскорбиновой кислоты в бобовых растениях по мере их роста и развития постепенно меняется в сторону увеличения, затем, в результате старения листьев, ее количество уменьшается. В период подготовки к цветению (фаза бутонизации) количество аскорбиновой кислоты достигает максимума (28,13–33,73 мг/100 г). Во время цветения и плодоношения в вегетативных частях бобовых растений данного метаболита становится меньше (3,11–10,22 мг/100 г), так как она накапливается в генеративных частях растений (рис. 2).

Установлено, что наибольшее количество аскорбиновой кислоты содержится в листьях донника лекарственного (7,11–33,73 мг/100 г), чем у амории ползучей (3,11–28,13 мг/100 г) во все сроки наблюдений. У донника лекарственного максимальное содержание витамина С отмечалось в подкрановой зоне, в сравнении с другими исследуемыми площадками. Так, значения варьировали от 10,22 до 33,33 мг/100 г и превысили в среднем на 28% контроль. У амории

ползучей более высокими показателями характеризовались растения, произрастающие в прикрановой зоне *P. sylvestris*, относительно контроля. Уровень аскорбиновой кислоты находился в пределах от 5,67 до 28,13 мг/100 г, что превышало в среднем на 17% контрольные значения.

Анализ значений коэффициентов вариации антиоксидантных компонентов выявил большую однородность показателей аскорбиновой кислоты, т.е. меньшую изменчивость признака по сравнению с активностью пероксидазы. Оценка варибельности вторичных метаболитов выявила отличия коэффициентов вариации, рассчитанных для различных видов растений. У донника лекарственного разрыв в изменчивости аскорбиновой кислоты уменьшался в 1,4 раза, в сравнении с аморией ползучей. У амории ползучей выявлена меньшая изменчивость пероксидазной активности в 1,1 раз, чем у донника лекарственного.

На основе полученных экспериментальных данных проведен расчет корреляционных связей между агрохимическими свойствами почв под насаждениями *P. sylvestris* на исследуемых площадках и антиоксидантных компонентов (табл. 2).

Наиболее тесная отрицательная связь у бобовых растений обнаружена между активностью пероксидазы и органическим веществом, подвижным фосфором; между пероксидазой и суммой поглощенных оснований отмечена положительная корреляция. Между аскорбиновой кислотой и агрохимическим показателями установлена обратная зависимость. Положительная корреляция у бобовых растений установлена между аскорбиновой кислотой и органическим веществом, подвижным фосфором; отрицательная корреляция – между аскорбиновой кислотой и суммой поглощенных оснований.

Таблица 2 – Корреляционные связи антиоксидантных компонентов с агрохимическими свойствами почвы (2017–2019 гг.)

Наименование показателей	Активность пероксидазы		Аскорбиновая кислота	
	<i>M. officinalis</i>	<i>A. repens</i>	<i>M. officinalis</i>	<i>A. repens</i>
pH _{солевая} , ед. pH	–0,16	–0,12	–0,28	–0,24
Органическое вещество, %	–0,39	–0,32	0,32	0,28
P ₂ O ₅ , мг/кг	–0,43	–0,35	0,34	0,31
K ₂ O, мг/кг	–0,35	–0,30	0,26	0,21
N общий, %	–0,35	–0,28	0,28	0,24
Сумма поглощенных оснований, ммоль/100 г	0,37	0,32	–0,29	–0,25

Примечание. Отмеченные корреляции значимы на уровне $p < 0,05$, $N = 90$.

Выводы

1. Насаждения *Pinus sylvestris* L. оказывают существенное влияние на накопление вторичных метаболитов в листьях бобовых растений в течение вегетации. Содержание аскорбиновой кислоты у бобовых растений по мере их роста и развития увеличивается, затем, в результате старения листьев, ее количество уменьшается. По содержанию пероксидазы выявлена обратная зависимость.

2. Исследованиями установлено, что активность компонентов антиоксидантной системы зависит от видовых особенностей растений: у амории ползучей выше, чем у донника лекарственного.

3. Исследуемые образцы характеризовались наименьшей вариабельностью по содержанию аскорбиновой кислоты, в сравнении с активностью пероксидазы. У донника лекарственного разрыв в изменчивости аскорбиновой кислоты уменьшался в 1,4 раза, в сравнении с аморией ползучей.

4. Наиболее тесная отрицательная связь у бобовых растений обнаружена между активностью пероксидазы и органическим веществом, подвижным фосфором; между пероксидазой и суммой поглощенных оснований отмечена положительная корреляция, что указывает на возможность использования полученных данных в качестве диагностических признаков состояния растений для мониторинга природных экосистем.

Список литературы:

1. Singh H.P., Kohli R.K., Batish D.R., Kaushal P.S. Allelopathy of gymnospermous trees // Journal of Forest Research. 1999. Vol. 4, is. 3. P. 245–254. DOI: 10.1007/BF02762256.

2. Mallik A.U. Allelopathy in forested ecosystems // Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry. 2008. P. 363–386. DOI: 10.1007/978-0-387-77337-7_19.

3. Da Silva Rodrigues-Corrêa K.C., Halmenschlager G., Schwambach J., De Costa F., Germano Fett-Neto A. Dual allelopathic effects of subtropical slash pine (*Pinus elliptica* Engelm.) needles: leads for using a large biomass reservoir // Industrial Crops and Products. 2017. Vol. 1081. P. 113–120. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.06.019.

4. Уфимцев В.И., Стрельникова Т.О., Куприянов О.А. Структура живого напочвенного покрова в сосняках на техногенных элювиях Кузбасса // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2018. № 44. С. 36–58. DOI: 10.17223/19988591/44/3.

5. Дэви С.Р., Прасад М.Н. Антиоксидантная активность растений *Brassica juncea*, подвергнутых действию высоких концентраций меди // Физиология растений. 2005. Т. 52, № 2. С. 233–237.

6. Половникова М.Г., Воскресенская О.Л. Активность компонентов антиоксидантной защиты и полифенолоксидазы у газонных растений в онтогенезе в условиях городской среды // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 5. С. 777–785.

7. Гарифзянов А.Р., Горелова С.В., Иванищев В.В., Музафаров Е.Н. Сравнительный анализ активности компонентов антиоксидантной системы древесных растений в условиях техногенного стресса // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2009. № 1. С. 166–178.

8. Sheng-chun X., Yong-ping L., Jin H. et al. Response of antioxidant enzymes to chilling stress in tobacco seedling // Agricultural Sciences in China. 2010. Vol. 9. P. 1594–1601.

9. Гусейнова И.М., Мамедов А.Ч., Султанова Н.Ф. Антиоксидантная система у инфицированных нановирусами бобовых растений [Электронный ресурс] // Современные проблемы науки и образования. 2011. № 6. – <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=4934>.

10. Цандекова О.Л., Неверова О.А., Колмогорова Е.Ю. Роль антиоксидантной системы в устойчивости сосновых насаждений в условиях породного угольного отвала // Известия Самарского научного центра РАН. 2013. Т. 15, № 3. С. 245–248.

11. Колмогорова Е.Ю., Неверова О.А. Влияние некоторых компонентов антиоксидантной системы на устойчивость древесных растений, произрастающих в условиях породного отвала угольного разреза // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2015. № 9 (131). С. 61–65.

12. Савич И.М. Пероксидазы – стрессовые белки растений // Успехи современной биологии. 1989. № 107, вып. 3. С. 406–417.

13. Simova-Stoilova L., Demirevska K., Kingston-Smith A., Feller U. Involvement of the leaf antioxidant system in the response to soil flooding in two *Trifolium* genotypes differing in their tolerance to waterlogging // Plant Science. 2012. Vol. 183. P. 43–49. DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.11.006.

14. Галибина Н.А., Целищева Ю.Л., Андреев В.П., Софронова И.Н., Никерова К.М. Активность пероксидазы в органах и тканях деревьев березы повислой // Ученые записки петрозаводского государственного университета. Серия Биология. 2013. № 4. С. 7–13.

15. Berezina E.V., Brilkina A.A., Veselov A.P. Content of phenolic compounds, ascorbic acid, and photosynthetic pigments in *Vaccinium macrocarpon* Ait. dependent on seasonal plant development stages and age (the example of introduction in Russia) // Scientia Horticulturae. 2017. Vol. 21814. P. 139–146. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.01.020.

16. Liso R., Tullio M.C.D., Ciraci S. Localization of ascorbic acid, ascorbic acid oxidase, and glutathione in roots of *Cucurbita maxima* L. // Journal of Experimental Botany. 2004. Vol. 55, № 408. P. 2589–259.
17. Brauning H., Pahllich E., Muller D., Juger H.-J. Changes of the redox status of glutathione and ascorbate in leaves and apoplast of *Phaseolus vulgaris* cultivars under ozone stress // Phyton (Austria) Special Issue. 2005. Vol. 45. P. 293–297.
18. Фазлиева Э.Р., Киселева И.С., Жуйкова Т.В. Антиоксидантная активность листьев *Melilotus albus* и *Trifolium medium* из техногенно нарушенных местообитаний среднего Урала при действии меди // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 3. С. 369–375.
19. Щемелинина Т.В., Сорокина А.А. Содержание аскорбиновой и органических кислот в траве донника лекарственного // Фармация. 2015. № 2. С. 22–24.
20. Неверова О.А. Практикум по биохимии для студентов вузов. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. Кемерово, 2005. 69 с.
21. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
22. Воробьева Л.А. Химический анализ почв. М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 1998. 324 с.
23. Гамзиков Г.П. Агрехимия азота в агроценозах. Новосибирск: Новосиб. гос. аграр. ун-т, 2013. 790 с.
- Работа выполнена в рамках проекта № АААА-А17-117041410053-1 (0352-2019-0015 VI.52. Оценка состояния и охрана флористического разнообразия под влиянием антропогенных и техногенных факторов in situ и ex situ).*

THE EFFECT OF *PINUS SYLVESTRIS* L. PLANTINGS ON THE COMPONENTS ACTIVITY OF LEGUMES ANTIOXIDANT SYSTEM

© 2020

Kolmogorova Elena Yurevna, candidate of biological sciences,
researcher of Reclamation and Biomonitoring Laboratory
Tsandekova Oksana Leonidovna, candidate of agricultural sciences,
researcher of Reclamation and Biomonitoring Laboratory
*Institute of Human Ecology of Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry
of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Kemerovo, Russian Federation)*

Abstract. The paper shows the content of some components of the antioxidant system (ascorbic acid and peroxidase) in the leaves of leguminous plants growing under *Pinus sylvestris* L. plantings during the growing season. The studies were conducted on the territory of the Kuzbass Botanical Garden (coordinates 55,366186, 86,190160). The objects of the research were *Melilotus officinalis* and *Trifolium repens*. The ascorbic acid content was determined by the titrimetric method, peroxidase activity was determined by spectrophotometry. The components activity of the antioxidant system in the leaves of leguminous plants growing under *P. sylvestris* plantings depended on the species characteristics and the period of plant vegetation. The activity of peroxidase during the growing season in the leaves of *Trifolium repens* is higher than in the leaves of the *Melilotus officinalis*. As plants grow and develop, peroxidase levels increase. The content of ascorbic acid in the leaves of leguminous plants revealed an inverse relationship. The studied samples were characterized by the least variability in the content of ascorbic acid, in comparison with the activity of peroxidase. In the *Melilotus officinalis*, the gap in the variability of ascorbic acid decreased by 1,4 times, compared with *Trifolium repens*. The closest negative relationship in legumes was found between the activity of peroxidase and organic matter, mobile phosphorus; a positive correlation was noted between peroxidase and the amount of absorbed bases, which indicates a possibility of using the obtained data as diagnostic signs of plant conditions for monitoring natural ecosystems.

Keywords: legumes; *Melilotus officinalis*; *Trifolium repens*; leaves; vegetation development; peroxidase; ascorbic acid; antioxidant system; *Pinus sylvestris* L.; Kedrovsky coal mine; agrochemical composition of soils; correlation; environmental monitoring; Kuzbass Botanical Garden; Kemerovo; Kemerovo Region.