

## НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ ПОМОГАЮТ РЕДКОМУ ВИДУ ОРХИДЕЙ ВЫЖИВАТЬ НА СЕРПЕНТИНИТОВЫХ ОТВАЛАХ

Елькина А.В., Чукина Н.В.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н.

Ельцина, Екатеринбург, Россия

[Elkina200@yandex.ru](mailto:Elkina200@yandex.ru) [nady\\_dicusar@mail.ru](mailto:nady_dicusar@mail.ru)

**Аннотация.** В статье представлены результаты исследования морфофизиологических и биохимических характеристик орхидеи *Epipactis atrorubens*, произрастающей в естественном лесном фитоценозе и техногенно нарушенных местообитаниях. Изучены параметры листовой пластинки, водный режим листьев, уровень перекисного окисления липидов, а также содержание фотосинтетических пигментов и низкомолекулярных антиоксидантов в листьях растений. Результаты исследования показали, что адаптивные структурные перестройки листа и активация системы антиоксидантной защиты определяют не только способность редкого вида орхидей выживать в неблагоприятных условиях, но и успешно адаптироваться к ним.

**Ключевые слова:** *Epipactis atrorubens*, техногенно нарушенные местообитания, окислительный стресс, фотосинтетические пигменты, низкомолекулярные антиоксиданты.

## LOW-MOLECULAR ANTIOXIDANTS HELP RARE ORCHIDS TO SURVIVE IN SERPENTINE DUMPS

*Elkina Angelina, Chukina Nadezhda*

Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

**Abstract.** The article presents the results of a study of morphophysiological and biochemical characteristics of the orchid *Epipactis atrorubens*, growing in natural forest community and technogenic habitats. Leaf mesostructure, water regime and biochemical features (level of lipid peroxidation, content of photosynthetic pigments and low molecular weight antioxidants) of plants have been studied. The present study showed that the adaptive leaf structural rearrangements and activation of antioxidant defense system determine not only the ability of a rare orchids to survive in negative conditions, but also to successfully adapt to them.

**Key words:** *Epipactis atrorubens*, technogenic habitats, oxidative stress, photosynthetic pigments, low-molecular antioxidants.

Антропогенное воздействие на биосферу неуклонно растет, в связи с чем с каждым годом уменьшается доля ненарушенных природных территорий. Из-за своих биологических и экологических особенностей, а также высокой декоративности растения семейства Орхидные (Orchidaceae Juss.) являются одними из самых уязвимых видов флоры России. Большинство из них занесено в Красные книги, где им присвоен статус редких или исчезающих видов [1].

Вместе с тем, в литературе в последнее время отмечается, что орхидеи способны успешно заселять техногенно нарушенные территории, при этом значительно увеличивая в них свою численность [2–4]. Одной из таких орхидей является *Epipactis atrorubens* – дремлик темно-красный. На территории Свердловской области популяции дремлика обнаружены на отвалах серпентинитовых вскрышных пород Анатолийско-Шилловских месторождений асбеста [5]. В настоящее время наиболее полно исследованы экологические и морфологические особенности орхидных на данных территориях, однако недостаточно изучены их адаптивные физиолого-биохимические реакции. Мы предполагаем, что активное заселение дремликом темно-красным техногенных местообитаний может быть связано с активацией антиоксидантной системы растений.

Цель работы – провести сравнительную оценку морфофизиологических характеристик и параметров антиоксидантного статуса растений *E. atrorubens* из естественных и техногенно нарушенных местообитаний для выявления адаптивных способностей данного вида к загрязнению среды.

Исследования проводились в июне-июле 2021 года на территории отработанных отвалов серпентинитовых вскрышных пород Анатолийско-Шилловских месторождений асбеста (участки 2–4) в районе поселка Новоасбест (Свердловская область, Россия). Асбестовые отвалы обладают экстремальными физико-химическими характеристиками: сильно каменистым субстратом, плохой влагоудерживающей способностью, низким содержанием биогенных элементов (N, P, K), и высоким содержанием ряда тяжелых металлов (Ni, Cr, Co); вследствие отсутствия сомкнутости крон на участках наблюдается повышенный уровень инсоляции [5]. В качестве фонового местообитания использовался естественный лесной фитоценоз (участок 1), расположенный с северо-западной стороны от карьерно-отвального комплекса (см. рисунок 1).

Для целей настоящего исследования из каждого исследованного участка с 5–10 генеративных особей *E. atrorubens* было отобрано по 3–4 листа среднего яруса.

Для анализа параметров листа на замораживающем микротоме МЗ-2 (Россия) были получены поперечные срезы листьев. Измерения толщины листа,

эпидермиса и мезофилла проводили в программе SIAMS MesoPlant (Россия). Характеристики водного режима листьев определяли согласно методике [6].

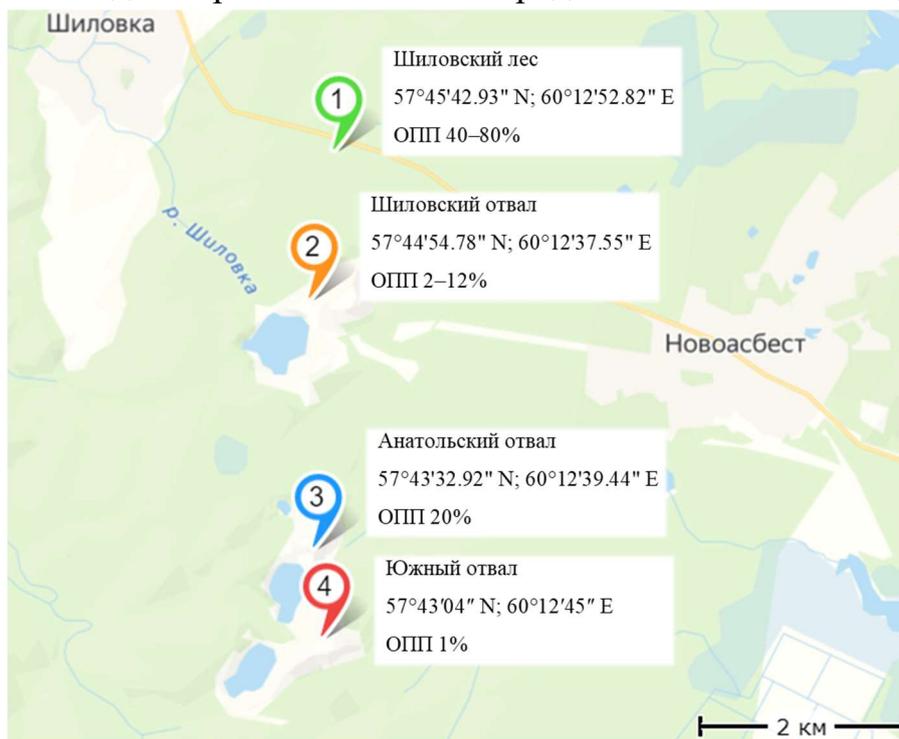


Рисунок 1 – Карта района исследования

Примечание: ОПП – общее проективное покрытие травянистого яруса

В листьях *E. atrorubens* определяли: содержание фотосинтетических пигментов (в 80% ацетоне) [7], количество общих фенольных соединений (с реактивом Фолина-Чокальтеу) [8], уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) (по концентрации малонового диальдегида), содержание аскорбиновой кислоты (после экстракции в смеси фосфата натрия и метафосфорной кислоты), концентрацию растворимых тиолов (с реактивом Элмана), содержание флавоноидов, пролина (с ациднингидриновым реактивом) по стандартным общепринятым методикам [9]. Данные представлены в расчете на грамм сухого веса. Для оценки достоверности отличий между изученными участками использовали непараметрический критерий Манна-Уитни при  $p < 0,05$ .

Внутренняя структура мезофилла листа обеспечивает поглощение и преобразование света, а также уровень газообмена для эффективного течения фотосинтеза. Однако строение листа достаточно пластично и может изменяться под действием различных внешних и внутренних факторов в результате адаптации растений к различным экологическим условиям [10]. Исследования показали, что у *E. atrorubens*, произрастающих на отвалах (за исключением участка 4) достоверно возрастает толщина листа за счет увеличения толщины мезофилла и эпидермиса по сравнению с растениями из лесного фитоценоза. При этом растения из нарушенных местообитаний обладают достоверно меньшей

водообеспеченностью и большим водным дефицитом (см. таблицу 1). Так как для отвалов характерны неблагоприятные физические условия, приобретение ксероморфных черт в строении листовой пластинки орхидеи можно рассматривать как защитно-приспособительную реакцию к водному дефициту и избыточной инсоляции.

Таблица 1. Параметры мезоструктуры и водного режима в листьях *E. atrorubens*

| Параметр               | Участок 1                 | Участок 2                 | Участок 3                 | Участок 4                 |
|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Толщина листа, мкм     | 219,7 <sup>a</sup> ± 2,1  | 295,4 <sup>b</sup> ± 4,2  | 279,5 <sup>c</sup> ± 4,9  | 205,3 <sup>d</sup> ± 4,8  |
| Толщина мезофилла, мкм | 159,3 <sup>a</sup> ± 1,88 | 219,7 <sup>b</sup> ± 4,0  | 214,2 <sup>c</sup> ± 4,3  | 158,2 <sup>d</sup> ± 3,6  |
| Толщина эпидемиса, мкм | 60,44 <sup>a</sup> ± 1,07 | 75,74 <sup>b</sup> ± 2,08 | 65,26 <sup>c</sup> ± 1,80 | 47,10 <sup>d</sup> ± 1,69 |
| Водообеспеченность, %  | 88,45 <sup>a</sup> ± 0,82 | 81,07 <sup>b</sup> ± 1,12 | 85,57 <sup>c</sup> ± 0,48 | 85,79 <sup>c</sup> ± 0,51 |
| Водный дефицит, %      | 11,55 <sup>a</sup> ± 0,82 | 18,93 <sup>b</sup> ± 1,12 | 14,43 <sup>c</sup> ± 0,48 | 14,21 <sup>c</sup> ± 0,51 |

Примечание: в таблице представлены средние арифметические значения ± стандартные ошибки. Разными буквами обозначены достоверные различия между исследованными участками при  $p < 0,05$ .

Еще одной важной характеристикой фотосинтетического аппарата является содержание пигментов в листе. Пигментный комплекс весьма чувствителен к факторам среды: как правило, при стрессе у растений уменьшается количество пигментов из-за их деградации или нарушения синтеза. Поэтому уровень содержания фотосинтетических пигментов можно рассматривать как один из показателей устойчивости растений [11]. В листьях *E. atrorubens*, произрастающих на участке 2 и 4, содержится достоверно меньше зеленых пигментов (в среднем на 25 %) в отличие от контрольных растений. Причиной чему, возможно, является дефицит биогенных элементов в субстратах отвалов. При этом у орхидей с отвалов достоверно увеличивается содержание каротиноидов по сравнению с фоновыми растениями (в среднем на 17 %), что, вероятно, связано с антиоксидантной и фотопротекторной функцией данных пигментов (см. рисунок 2).

Одной из индикаторных реакций на стресс является увеличение процессов ПОЛ в клетках растений. Показано, что у орхидей, заселяющих отвалы, данный параметр достоверно выше, чем у растений из участка 1 (в среднем на 17 %). Для снижения негативного последствия окислительных процессов, растения способны синтезировать различные антиоксидантные соединения (АО), защищающие

клетки от активных форм кислорода, свободных радикалов и тяжелых металлов [12]. Вероятно поэтому в листьях *E. atrorubens* с участков отвалов усиливается синтез ряда низкомолекулярных АО (см. рисунок 2): аскорбиновой кислоты (более чем в 1,5 раза в растениях со 2 и 4 участка), небелковых тиолов (на участке 2 и 3 содержание в растениях возрастает почти в 2 раза), фенолов и флавоноидов (на всех участках отвала содержание увеличивается более чем на 30%), а также пролина (содержание увеличивается в среднем на 15% на всех отвалах). Данные об участии низкомолекулярных антиоксидантов в адаптации к неблагоприятным условиям среды согласуются с ранее полученными нами результатами для других видов орхидей [13].

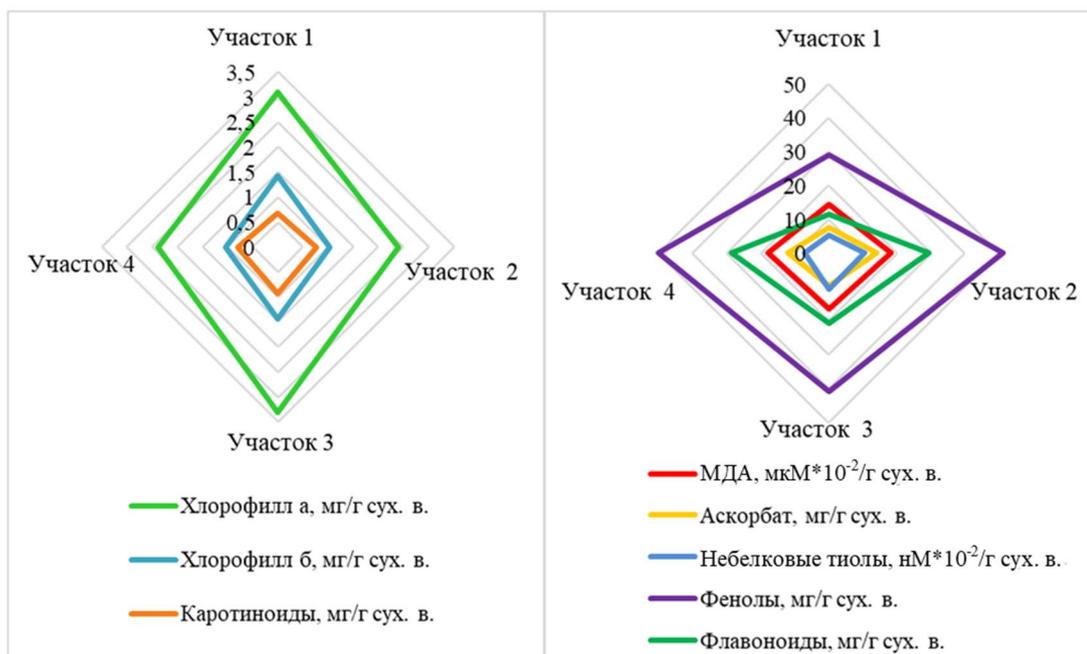


Рисунок 2 – Содержание фотосинтетических пигментов и низкомолекулярных антиоксидантов в листьях *E. Atrorubens*

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что для растений *E. atrorubens* условия серпентинитовых отвалов являются стрессовыми, о чем свидетельствует увеличение уровня ПОЛ и снижение концентрации зеленых пигментов. Однако дремлик темно-красный обладает высоким адаптивным потенциалом, вероятно, приобретение ксероморфных черт в строении листа, а также увеличение синтеза в листьях низкомолекулярных антиоксидантов позволяют этому виду приспосабливаться к существованию в неблагоприятных условиях и успешно колонизировать нарушенные местообитания. Результаты настоящего исследования дополняют имеющиеся сведения об особенностях биологии и физиологии *E. atrorubens* и позволяют рекомендовать данный вид орхидей для успешного культивирования в садах и парках в целях охраны генофонда редких и исчезающих видов растений.

## Библиографический список

1. Вахрамеева М. Г., Варлыгина Т. И., Татаренко И. В. Орхидные России (биология, экология, охрана). – М. : Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 437 с.
2. Adamowski W. Expansion of native orchids in anthropogenous habitats // Polish Botanical Studies. – 2006. – V. 22. – P. 35–44.
3. Rewicz A. [et al.] Cities and disturbed areas as man-made shelters for orchid communities // Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. – 2017. – V. 45, № 1. – P. 126–139.
4. Филимонова Е. И., Лукина Н. В., Глазырина М. А. Орхидные в техногенных экосистемах Урала // Экосистемы. – 2014. – № 11 (30). – С. 68–75.
5. Филимонова Е. И. [и др.] *Epipactis atrorubens* (Hoffm. ex Bernh.) Bess. в антропогенно нарушенных местообитаниях Среднего Урала // Наука, природа и общество. – 2020. – С. 141–145.
6. Борисова Г. Г. [и др.] Физиология растений и микробиология: методическое пособие к летней полевой практике – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2006. – 65 с.
7. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes // Methods in Enzymology. – 1987. – V. 148. – P. 350–382.
8. Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent // Methods in Enzymology. – 1999. – V. 299. – P. 152–178.
9. Борисова Г. Г. [и др.] Методы оценки антиоксидантного статуса растений: учеб.-метод. пособие – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. – 72 с.
10. Мокронос А. Т., Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. – М. : Academia, 2006. – 445 с.
11. Ashraf M., Harris P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview // Photosynthetica. – 2013. – V. 51, № 2. – P. 163–190.
12. Колупаев Ю. Е., Ястреб Т. О. Физиологические функции неэнзиматических антиоксидантов растений // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2015. – № 2. – С. 6–25.
13. Малева М. Г. [и др.] Содержание фенольных соединений в листьях *Platanthera bifolia* из естественной и трансформированных экосистем на разных стадиях развития орхидеи. В сборнике: III Международный симпозиум "Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений". Школа молодых учёных "Роль активных форм кислорода в жизни растений". Материалы докладов. Екатеринбург, 2021. С. 121-122.