

**И.В. КОСАКОВСКАЯ<sup>1</sup>, В.Н. ГРИШКО<sup>2</sup>, Д.В. СЫЩИКОВ<sup>2</sup>, А. ИВАНОВА<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины  
Украина, 01601 г. Киев, ул. Терещенковская, 2

<sup>2</sup> Криворожский ботанический сад НАН Украины  
Украина, 50089 г. Кривой Рог, ул. Маршака, 50

<sup>3</sup> Институт физиологии растений и генетики Болгарской академии наук  
Болгария, 1113 г. София, ул. акад. Г. Бончев, блок 21

## **ПРОДУКТЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, БИОАНТИОКСИДАНТЫ — ГЛУТАТИОН И АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА ГАЛОФИТОВ *SALSOLA SODA L.*, *GLAUCIUM FLAVUM* *CRAMBS.* И *EUPHORBIA PEPLUS L.***

*Изучена интенсивность процессов перекисидации липидов, содержание биоантиоксидантов — глутатиона и форм аскорбиновой кислоты у растений-галофитов *Salsola soda L.*, *Glaucium flavum Crambs.* и *Euphorbia peplus L.* Выявлены отличия в характере образования первичных и вторичных продуктов перекисидации, содержания глутатиона и форм аскорбиновой кислоты в органах ассимиляции исследованных видов. Обсуждается возможная роль липидных метаболических процессов и антиоксидантных соединений в формировании стратегии вида и его адаптационного потенциала.*

**Ключевые слова:** биоантиоксиданты, галофиты, адаптационный потенциал.

Засоление земель является одним из важнейших факторов опустынивания. Повышенная концентрация солей в почве ограничивает разнообразие культурной флоры и обуславливает бедность природной. Действие засоления и повышенной ультрафиолетовой радиации приводит к значительному снижению количества и качества сельскохозяйственной продукции и большим экономическим потерям [30]. Галофиты, растения приспособленные к условиям сильного засоления, во многом обеспечивают экологические функции таких почв [9, 15]. Они способны накапливать тяжелые металлы в концентрациях, летальных для других видов. Их можно применять в качестве биоиндикаторов засоленных и загрязненных тяжелыми металлами почв, а также для их фиторемедиации [28].

Влияние солей, содержащихся в почве, на процессы жизнедеятельности растительного организма происходит на различных иерархических уровнях — от молекулярного

до ценотического [27]. В незначительных количествах соли являются источником минеральных веществ, а в высокой концентрации — стрессовым фактором, под действием которого растение формирует определенные «реакции-ответы», входящие в состав адаптационного синдрома [2].

Свободнорадикальные процессы, особое место среди которых занимает перекисное окисление липидов (ПОЛ), а также антиоксидантные системы небелковой природы, в частности, глутатион и аскорбиновая кислота, принимают активное участие в формировании адаптационного синдрома растений [14]. Целью нашей работы было изучить и сравнить интенсивность процессов перекисидации липидов, содержание биоантиоксидантов — глутатиона и различных форм аскорбиновой кислоты у растений-галофитов *Salsola soda L.*, *Glaucium flavum Crambs.* и *Euphorbia peplus L.* для выяснения возможной роли липидных метаболических процессов и антиоксидантных соединений в формировании стратегии вида и его адаптационных возможностей. Иссле-

дования проведены в рамках проекта двустороннего международного научного сотрудничества между Институтом ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины и Институтом физиологии растений и генетики Болгарской академии наук по теме «Влияние промышленных загрязнений и засоления на растения-галофиты флоры Украины и Болгарии».

### Материалы и методы

Исследования проведены с растениями *Salsola soda* (курай содяной), *Glaucium flavum* (мачок желтый) и *Euphorbia replus* (молочай одетый), произраставшими в природных условиях на берегу Эгейского моря (Греция, полуостров Ситония). Засоление составляло примерно 500 мг солей на 100 г грунта. Надземная часть (листья) были собраны в сентябре 2009 года, образцы хранили при температуре  $-19^{\circ}\text{C}$ .

*Salsola soda* — однолетнее травянистое растение из семейства *Chenopodiaceae*. Растет на влажных засоленных грунтах, солончаковых лугах, лиманах. Относится к солянкам (эвгалофитам, или настоящим галофитам), характеризуется повышенной концентрацией солей и высоким давлением в клетках, что позволяет всасывать воду из концентрированных грунтовых растворов.

*Glaucium flavum* — одно- или двухлетнее травянистое растение из семейства *Rapaceae*. Растет вдоль морского побережья на гальке и склонах. Относится к гликогалофитам. Характеризуется малопроницаемой для солей корневой системой, что предотвращает накопление солей в растительных тканях.

*Euphorbia replus* — однолетнее травянистое растение из семейства *Euphorbiaceae*. Произрастает на засоленных и песчаных грунтах. Относится к гликогалофитам.

Определение содержания диеновых и триеновых конъюгатов проводили модифицированным методом [4], ТБК-активных продуктов — по методу [11], суммы аскорбиновой, дегидроаскорбиновой и 2,3-ди-

кетогулоновой кислот — по методам [19]; содержания восстановленной формы глутатиона — по модифицированному методу [6, 7]. Для выделения липидной фракции 15 г растительного материала гомогенизировали с 30 мл смеси хлороформа и метанола (2:1). После фильтрации и упаривания в вакууме сухой остаток взвешивали и трансформировали в метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) согласно методу [24]. Анализ МЭЖК проводили с помощью прибора Hewlett Packard (Palo Alto, США) на капиллярной колонке SP WAX 52CB. В качестве газа-носителя использовали азот. Опыты проводили в 3 повторностях. Отличия данных считали достоверными при  $p \leq 0,05$  согласно критерию Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Одной из составляющих адаптационного синдрома являются свободнорадикальные процессы, активация которых позволяет реализовать защитные реакции организма [4, 20].

При изучении процессов ПОЛ в органах ассимиляции солеустойчивых растений в ответ на влияние стресс-фактора обнаружено, что исследуемые виды отличаются по степени образования как первичных, так и вторичных продуктов перекисаации. Из приведенных в табл. 1 данных видно, что наименьшее содержание диеновых конъюгатов выявлено у *Salsola soda*, тогда как у двух других видов оно было в 1,52–1,68 раза выше.

Минимальное количество триеновых конъюгатов также имел эвгалофит *Salsola soda*. В листьях гликогалофита *Euphorbia replus* концентрация этих продуктов была в 1,7 раза выше, чем у *Salsola soda*, а в листьях *Glaucium flavum* — более чем в 2 раза.

Изучение интенсивности перекисаации липидов на более поздних стадиях (по скорости образования ТБК-активных продуктов) показало, что в органах ассимиляции наибольшее количество этих метаболитов обнаружено у *Euphorbia replus*. В листьях *Glaucium flavum* содержание ТБК-активных соединений было на 20% ниже, чем у

Таблица 1. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в листьях растений-галофитов

ТБК-активные продукты, 10 <sup>-6</sup> М МДА/мг белка			Диеновые конъюгаты, ед. адсорбции			Триеновые конъюгаты, ед. адсорбции		
M±m	t <sub>st</sub>	V, %	M±m	t <sub>st</sub>	V, %	M±m	t <sub>st</sub>	V, %
Glaucium flavum								
9,17±0,71	5,2	13,3	1,26±0,05	10,0	6,5	1,26±0,05	12,9	7,0
Euphorbia replus								
11,33±0,69	9,8	7,9	1,14±0,08	4,8	11,6	1,02±0,05	8,2	8,4
Salsola soda								
4,8±0,46	—	16,5	0,75±0,01	—	1,8	0,60±0,01	—	2,3

Примечание: t<sub>st</sub> — статистически достоверное отличие от показателей Salsola soda при p < 0,05.

Euphorbia replus, но превышала почти вдвое таковое в листьях Salsola soda, для которой установлено наименьшее количество малонового диальдегида (МДА).

Продукты ПОЛ могут быть как «индикаторами», так и «первичными медиаторами» стресса [21]. Выявлена активация свободно-радикальных реакций ПОЛ под действием разных стрессовых факторов [2, 29]. Накопление продуктов ПОЛ в корнях ячменя и

побегах кукурузы и гороха имело место при недостатке кислорода в условиях затопления [10]. В условиях теплового шока в хлоропластах растений гороха увеличивалось содержание как промежуточных (диеновых и триеновых конъюгатов), так и конечных (МДА) продуктов ПОЛ [16]. Показано, что влияние на растение или отдельные органы экзогенных перекиси водорода, ионов кальция, салициловой и абсцизовой кислот приводит к увеличению содержания эндогенных активных форм кислорода в тканях и усилению интенсивности ПОЛ [12, 13].

Анализ липидной фракции показал, что содержание липидов у гликогалофитов Euphorbia replus и Glaucium flavum значительно выше, чем у эвгалофита Salsola soda (табл. 2).

Исследование качественного характера липидной фракции растений галофитов также выявило отличия между исследованными видами (табл. 3). Так, растения Salsola soda отличались по содержанию ненасыщенных жирных кислот C<sub>18</sub>-ряда от других исследованных видов. Высокое содержание олеиновой (C<sub>18:1</sub>) и линолевой (C<sub>18:2</sub>) кислот на фоне уменьшения количества линоленовой (C<sub>18:3</sub>) кислоты, вероятно, приводит к уплотнению мембран у Salsola soda, что способствует адаптации к неблагоприятным условиям засоления.

Поддержка физиологически нормально го уровня свободнорадикальных процессов

Таблица 2. Содержание липидов в листьях растений-галофитов, мг/г сухой массы

Вид	Липидная фракция
Glaucium flavum	142,41 ± 5,7
Euphorbia replus	185,70 ± 7,4
Salsola soda	40,06 ± 1,6

Таблица 3. Содержание жирных кислот в листьях растений-галофитов, % от общего содержания кислот

Жирная кислота	Glaucium flavum	Euphorbia replus	Salsola soda
Олеиновая кислота	4,6	6,2	11,4
Линолевая кислота	16,8	16,9	30,2
Линоленовая кислота	53,1	52,2	36,0

обеспечивается сложной системой антиоксидантной защиты, одним из компонентов которой является глутатион [3, 8, 25]. Он активно вовлекается в биохимические процессы защиты клетки при стрессовом воздействии абиотических факторов [5, 15, 17, 23].

Проведенные исследования накопления восстановленной формы глутатиона в органах ассимиляции растений-галофитов показали, что по содержанию данного биоантиоксиданта изучаемые виды существенно отличаются между собой (табл. 4). Так, наименьшее количество зафиксировано у эвгалофита *Salsola soda*, тогда как у гликогалофитов *Glaucium flavum* и *Euphorbia replus* концентрация глутатиона была соответственно в 2,0 и 8,5 раза выше.

Полученные данные согласуются с приведенными ранее результатами исследования процессов ПОЛ [4, 22].

Особую роль в обеспечении защитных реакций в хлоропластах растений играет аскорбиновая кислота, которая непосредственно взаимодействует с активными формами кислорода, участвует в восстановлении низкомолекулярных антиоксидантов [18]. Установлено, что в клетках содержатся аскорбиновая, дегидроаскорбиновая и 2,3-дикетогулоновая кислоты [1, 22, 26].

Наименьшее количество как восстановленной, так и окисленных форм аскорбата выявлено в листьях эвгалофита *Salsola soda* (табл. 5). Содержание аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот в листьях глико-

Таблица 4. Содержание восстановленной формы глутатиона в листьях растений-галофитов

Вид	Содержание, мМ/г сырой массы	t <sub>st</sub>	% по отношению к <i>Salsola soda</i>	V, %
<i>Glaucium flavum</i>	22,8±1,50	7,6	215,3	13,2
<i>Euphorbia replus</i>	90,7±0,81	81,4	855,8	1,8
<i>Salsola soda</i>	10,6±0,56	—	—	10,5

галофита *Euphorbia replus* практически не отличалось от показателей *Salsola soda*. Однако количество продукта необратимого окисления аскорбата — 2,3-дикетогулоновой кислоты — у данного вида было на 15% выше, чем у *Salsola soda*. У гликогалофита *Glaucium flavum* уровень аскорбиновой кислоты почти вдвое превышал таковой в листьях *Salsola soda*, а содержание дегидроаскорбиновой и 2,3-дикетогулоновой кислот — на 53 и 31% соответственно.

#### Выводы

Эвгалофит *Salsola soda* характеризуется наименьшим содержанием диеновых и триеновых конъюгатов и малонового диальдегида, тогда как гликогалофиты *Euphorbia replus* и *Glaucium flavum* — наибольшим количеством первичных и вторичных продуктов ПОЛ.

Таблица 5. Содержание разных форм аскорбиновой кислоты в листьях растений-галофитов, мкг/г сырой массы

2,3-Дикетогулоновая кислота			Аскорбиновая кислота			Дегидроаскорбиновая кислота		
M±m	t <sub>st</sub>	V, %	M±m	t <sub>st</sub>	V, %	M±m	t <sub>st</sub>	V, %
<i>Glaucium flavum</i>								
231,9 ± 0,43	22,0	0,32	52,0 ± 1,84	11,2	6,14	268,4 ± 18,98	4,0	12,25
<i>Euphorbia replus</i>								
203,3 ± 3,47	6,3	2,95	29,9 ± 0,57	1,8	3,32	185,4 ± 6,29	0,7	5,88
<i>Salsola soda</i>								
176,6 ± 2,48	—	2,43	27,5 ± 1,17	—	7,33	175,1 ± 13,11	—	12,97

Наименьшее содержание липидов отмечено у *Salsola soda*. Высокое процентное содержание олеиновой и линолевой кислот на фоне уменьшения количества линоленовой кислоты у *Salsola soda*, вероятно, приводит к уплотнению мембран, что способствует адаптации к неблагоприятным условиям засоления.

Наименьшее количество восстановленной формы глутатиона зафиксировано у *Salsola soda*, что указывает на возможное участие этого соединения в ингибировании свободнорадикального окисления липидов у данного вида. Для гликогалофита *Euphorbia perplus* установлено наибольшее количество глутатиона, что может быть обусловлено активацией системы реутилизации антиоксиданта на фоне интенсивных свободнорадикальных процессов.

У *Salsola soda* выявлено наименьшее количество восстановленной и окисленных форм аскорбата, у *Glaucium flavum* — наибольшее.

Таким образом, эвгалофит *Salsola soda* отличался по интенсивности процессов перекисидации липидов, содержанию антиоксидантов — глутатиона и форм аскорбиновой кислоты, а также количественным и качественным показателям липидной фракции от гликогалофитов *Euphorbia perplus* и *Glaucium flavum*.

Полученные результаты свидетельствуют об участии липидных метаболических процессов и антиоксидантных соединений в формировании стратегии вида и реализации его адаптационных возможностей.

1. Барабой В.А. Биоантиоксиданты. — К.: Книга плюс, 2006. — 462 с.

2. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. — К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. — 422 с.

3. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журн. — 2000. — 6, № 12. — С. 13–19.

4. Гришко В.Н., Сыщиков В.Н. Пероксидное окисление липидов и функционирование некоторых антиокислительных ферментных систем у

кукурузы и овса при остром поражении фтористым водородом // Укр. биох. журн. — 1999. — 71, № 3. — С. 51–57.

5. Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Процессы перекисного окисления липидов и функционирование некоторых антиоксидантных ферментных систем у кукурузы при действии HF // Доп. АН України. — 2000. — № 2. — С. 191–195.

6. Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. К методике определения содержания тиоловых групп (восстановленной формы глутатиона) в растениях // Вестн. ДНУ. Биология. Экология. — Днепропетровск: ДНУ, 2002. — 1, вып. 10. — С. 190–193.

7. Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Метод определения восстановленной формы глутатиона в вегетативных органах растений // Укр. биохім. журн. — 2002. — 74, № 4. — С. 123–124.

8. Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Физиологическая роль глутатиона, его синтез и деградация у растений // Вісн. ХНАУ. Сер. Біол. — 2006. — Вип. 1 (8). — С. 21–33.

9. Добровольский Г.В., Никитин Е.Д. Экологические функции почв в биосфере и наземных экосистемах. — М.: Наука, 1990. — 261 с.

10. Захржевский Д.Р., Балахнина Т.И., Степаневский В. и др. Окислительные и ростовые процессы в корнях и листьях высших растений при различной доступности кислорода в почве // Физиология растений. — 1995. — 42. — С. 272–280.

11. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. — Мн.: Беларусь, 2000. — Т. 2. — С. 207.

12. Колупаев Ю.Є. Стресові реакції рослин: молекулярно-клітинний рівень. — Х., 2001. — 171 с.

13. Колупаев Ю.Є., Карпець Ю.В., Мусатенко Л.І. Участь активних форм кисню в індукванні солестійкості проростків пшениці саліциловою кислотою // Доп. АН України. — 2007. — № 6. — С. 154–158.

14. Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В. и др. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. — К.: Наук. думка, 2003. — 278 с.

15. Коцюбинская Н.П. Эколого-физиологические аспекты адаптации культурных растений к антропогенным условиям среды. — Днепропетровск: Изд-во ДГУ, 1995. — 172 с.

16. Курганова Л.Н., Веселов А., Гончарова Т.А. и др. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система защиты в хлоропластах гороха при тепловом шоке // Физиология растений. — 1997. — 44, № 5. — С. 725–730.

17. Марченко М.М., Блошко М.М., Костышин С.С. Действие малых доз  $\gamma$ -облучения на состояние

глутатионовой системы кукурузы (*Zea mays* L.) // Укр. биохим. журн. — 1996. — **68**, № 2. — С. 94–98.

18. *Микієвич І.М.* Роль аскорбінової кислоти та ферментів її метаболізму в адаптації рослин до токсичної дії іонів свинцю: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: спец. 03.00.12 «Фізіологія рослин». — Львів, 2003. — 20 с.

19. *Окунцов М.М.* Специальный практикум по биохимии и физиологии растений. — Калининград: КГУ, 1981. — 37 с.

20. *Тарчевский И.А.* Регуляторная роль деградации биополимеров и липидов // Физиология растений. — 1992. — **39**, № 6. — С. 1215–1223.

21. *Asada K., Foyer C.H., Mullineaux P.M.* Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues. — Boca Raton: CRC Press, 1994. — P. 77–104.

22. *Chenman M., Streif J.* Verteilung von Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure in Früchte von vier Apfelsorten // Esverbs-Obstbau. — 2002. — **44**, N 1. — S. 13–17.

23. *Foyer C.H., Lelandis M., Kunert K.J.* Photooxidative stress in plants // *Physiol. Plant.* — 1994. — **92**. — P. 696–717.

24. *Ivanova A., Nechev J., Stefanov K.* Lipid composition of some halophyte plants from the Black Sea coast in Bulgaria // *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* — 2000. — **53**. — P. 83–86.

25. *Noctor G., Strohm M., Jowanin L.* Synthesis of glutathione in leaves of transgenic poplar overexpressing  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase // *Plant Physiol.* — 1996. — **112**. — P. 1071–1078.

26. *Pallanca J.E., Smirnoff N.* The control of ascorbic acid synthesis and turnover in pea seedlings // *J. Exp. Bot.* — 2000. — **51**, N 345. — P. 669–674.

27. *Pierce S., Vianelli A., Cerabolini B.* From ancient genes to modern communities: the cellular stress response and the evolution of plant strategies // *Funct. Ecol.* — 2005. — **19**. — P. 763–776.

28. *Salt D.E., Blaylock M., Kumar N., Dushenkov V., et al.* Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants // *Biotechnology.* — 1995. — **13**. — P. 468–474.

29. *Trippi V.S., Gidrol X., Prated A.* Effects of oxidative stress caused by oxygen and hydrogen peroxide on energy metabolism and senescence in oat leaves // *Plant and Cell Physiol.* — 1989. — **30**, N 2. — P. 157–162.

30. *Vinocur B., Altman A.* Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitation // *Current Opinion in Biotechnology.* — 2005. — **16**. — P. 123–132.

Рекомендовал к печати П.А. Мороз

*І.В. Косаківська<sup>1</sup>, В.М. Гришко<sup>2</sup>,  
Д.В. Сищиків<sup>2</sup>, А. Іванова<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного  
НАН України, Україна, м. Київ

<sup>2</sup> Криворізький ботанічний сад НАН України,  
Україна, м. Кривий Ріг

<sup>3</sup> Інститут фізіології рослин і генетики  
Болгарської академії наук, Болгарія, м. Софія

#### ПРОДУКТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ, БІОАНТИОКСИДАНТИ — ГЛУТАТІОН ТА АСКОРБІНОВА КИСЛОТА ГАЛОФІТІВ *SALSOLA SODA* L., *GLAUCIUM FLAVUM* *CRAMBS.* I *EUPHORBIA PEPLUS* L.

Вивчено інтенсивність процесів пероксидації ліпідів, вміст біоантиоксидантів — глутатіону та форм аскорбінової кислоти у рослин-галофітів *Salsola soda* L., *Glaucium flavum* Crambs. і *Euphorbia peplus* L. Виявлено відмінності в характері утворення первинних і вторинних продуктів пероксидації, вмісті глутатіону та форм аскорбінової кислоти в органах асиміляції досліджуваних видів. Обговорюється можлива роль ліпідних метаболічних процесів та біоантиоксидантних сполук у формуванні стратегії виду і його адаптаційного потенціалу.

*Ключові слова:* біоантиоксиданти, галофіти, адаптаційний потенціал.

*І.В. Косаківська<sup>1</sup>, В.М. Гришко<sup>2</sup>,  
Д.В. Сищиків<sup>2</sup>, А. Іванова<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> M.G. Kholodny Institute of Botany, National  
Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, Kyiv

<sup>2</sup> Kryvyi Rig Botanical Garden, National Academy  
of Sciences of Ukraine, Ukraine, Kryvyi Rig

<sup>3</sup> Institute of Plant Physiology and Genetics,  
Bulgarian Academy of Sciences, Bulgaria, Sofia

#### THE PRODUCTS OF PEROXIDE LIPIDS OXIDATIONS AND BIOANTIOXIDANTS — GLUTATHIONE AND ASCORBIC ACID OF GALOPHYTES *SALSOLA SODA* L., *GLAUCIUM* *FLAVUM* *CRAMBS.* AND *EUPHORBIA PEPLUS* L.

Process intensity of lipides peroxidation and bioantioxidants — glutathione and different forms of ascorbic acid content in galophytes we analyzed *Salsola soda* L., *Glaucium flavum* Crambs. and *Euphorbia peplus* L. were studied. The different character of primary and secondary products of peroxidation, glutathione and forms of ascorbic acid content in organs of assimilation was found. The role of lipides metabolism and bioantioxidantes in plant adaptation and ecological strategy formation is considered.

*Key words:* bioantioxidants, galophytes, adaptation potential.