

АНТРОПОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ
НА РАСТИТЕЛЬНЫЕ РЕСУРСЫ

ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЫБРОСОВ ЦЕМЕНТНОГО ЗАВОДА НА СОДЕРЖАНИЕ
МЕТАБОЛИТОВ В ХВОЕ *LARIX CAJANDERI* (PINACEAE)
НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)

© 2021 г. И. В. Слепцов¹, *, С. М. Рожина¹, В. В. Михайлов¹

¹Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск, Россия

*e-mail: neroxasg@mail.ru

Поступила в редакцию 10.07.2020 г.

После доработки 28.08.2020 г.

Принята к публикации 07.03.2021 г.

Исследовано влияние выбросов Мохсоголлохского цементного завода (Республика Саха (Якутия)) на содержание метаболитов в хвое *Larix cajanderi* Mayr. Показано, что по мере приближения к цементному заводу наблюдалось повышение содержания элементов-поллютантов в хвое *L. cajanderi* – кремния, кальция, железа, алюминия, титана, цинка, хрома, никеля и ванадия. В результате их воздействия происходило повышение интенсивности перекисного окисления липидов в хвое, что приводило к ответной биохимической реакции, выражающейся в повышении содержания флавоноидов, жирных кислот, моносахаридов, дисахаридов, пинитола, дитерпеновых смоляных кислот, активности супероксиддисмутазы и снижении концентрации фосфорной и органических кислот. Техногенное загрязнение выбросами цементного завода привело к повышению уровня перекисного окисления липидов, активации антиоксидантных систем, ингибированию процессов клеточного дыхания, утолщению клеточной стенки и повышению содержания смоляных кислот в хвое *L. cajanderi*.

Ключевые слова: *Larix cajanderi*, хвоя, перекисное окисления липидов, флавоноиды, метаболомный профиль, техногенное загрязнение, цементный завод

DOI: 10.31857/S0033994621020084

В настоящее время, вследствие интенсивного развития промышленности, одной из актуальных проблем является антропогенное загрязнение атмосферы, почв, водных ресурсов и растений. Загрязнение пылью составляет примерно 10% от общего антропогенного загрязнения [1]. Одним из основных источников пылевого загрязнения является цементная промышленность [2]. Выбросы цементного завода воздействуют на достаточно обширную территорию. В аэрозольные выбросы завода входят оксиды азота, серы, углерода, органические продукты сгорания топлива и значительное количество цементной, шламовой, клинкерной пыли [3]. Цементная пыль, которая является продуктом пережигания известняка с цементообразующими добавками, содержит CaO, SiO₂, K₂O, SO₃, Al₂O₃, MgO, Fe₂O₃, MnO, в меньшем количестве соединения Mn, Zn, Cu, Cr, V, As, Ba, Pb и т.д. [4, 5]. Выбросы цементного завода оказывают влияние на биоту, в результате этого в организмах протекают приспособительные физиолого-биохимические реакции. Показано, что вблизи цементного завода наблюдается усыхание деревьев с характерным вершинно-пе-

риферическим типом повреждения кроны, декорация хвоя, уменьшение количества молодых побегов [6]. Установлено также изменение биохимических параметров, вследствие повышения уровня активных форм кислорода (АФК) и свободных радикалов, в результате чего изменяется прооксиданто-антиоксидантное стационарное равновесие в клетках растений [7–9]. Основной древесной породой и наиболее подверженной техногенному загрязнению Мохсоголлохским цементным заводом является лиственница Каяндера *Larix cajanderi* Mayr. Однако изучение влияния выбросов цементного завода на первичные и вторичные метаболиты хвои *L. cajanderi* ранее не проводилось.

Цель данного исследования – изучить воздействие хронического загрязнения цементной пылью на первичные и вторичные метаболиты в хвое *Larix cajanderi*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась лиственница Каяндера *Larix cajanderi* Mayr, относящаяся к се-

мейству Pinaceae Lindl. Сбор хвои проводили с деревьев высотой 2–3 м в лиственничниках брусничных, в конце июля 2019 г. Точки отбора проб находились на расстоянии 1 (61°24' с.ш., 128°58' в.д.), 2 (61°25' с.ш., 128°59' в.д.), 3 (61°25' с.ш., 129°00' в.д.), 4 (61°25' с.ш., 129°01' в.д.) и 8 км (61°28' с.ш., 129°04' в.д. – условно чистая зона) от Мохсоглохского цементного завода (Республика Саха (Якутия)) в северо-восточном направлении, в котором, согласно результатам, полученным В.А. Соромотиным [6], регистрируется преимущественное пылевое загрязнение. Отбор проб хвои для каждой аналитической повторности производили с 5 разных деревьев.

Для определения элементного состава отобранных образцов хвои *L. cajanderi*, предварительно промытых дистиллированной водой, использовался атомно-эмиссионный спектрометр с индуктивно связанной плазмой (АЭС ИСП) iCAP DUO 6500 фирмы Thermo Scientific (США) с программным обеспечением iTEVA. Используемая методика заключается в кислотном разложении навески 100 мг измельченной пробы. Навески помещали в полипропиленовые пробирки системы HotBlock фирмы Environmental Express (США), добавляли по 1 мл 40%-ной фтористоводородной кислоты. Пробирки помещали в систему HotBlock и выдерживали при 130 °С в течение 60 мин. После 30 мин остывания в пробирки добавляли по 2 мл 70%-ной азотной кислоты и 8 мл 37%-ной соляной кислоты. Пробирки выдерживали с закрытой крышкой при 130 °С в течение 60 мин в системе HotBlock. После 30 мин остывания пробирок на воздухе в каждую добавляли по 5 мл 37%-ной соляной кислоты и 20 мл 4%-ной борной кислоты. В качестве внутреннего стандарта для учета качества разбавления полученного раствора и различных эффектов матрицы при определении методом АЭС использовалась добавка 1 мл раствора нитрата индия с массовой концентрацией In^{3+} 1.25 мг/л. Полученный раствор разбавляли до 50 мл и фильтровали через бумажный фильтр марки «синяя лента». Далее в фильтрате проводили определение концентраций Si, Ca, Fe, Al, Ti, Zn, Cr, Ni, V методом АЭС ИСП.

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1; мкмоль/г мин) проводили по измерению величины молярного коэффициента экстинкции бисформазановых комплексов [10]. Интенсивность перекисного окисления липидов определяли по методике, основанной на реакции между малоновым диальдегидом (МДА, мкмоль/г) и тиобарбитуровой кислотой [11]. Концентрацию флавоноидов в хвое определяли в метанольных экстрактах на ВЭЖХ Милихром А-02 фирмы ЭкоНова (Россия) [12].

Для метаболомного анализа 10 мг воздушно-сухой хвои *L. cajanderi* экстрагировали в 1 мл ме-

таноло. Полученный экстракт выпаривали при 40° С на роторном испарителе, сухой остаток растворяли в 50 мкл пиридина. Для получения летучих триметилсилил-производных (ТМС) проводили дериватизацию с использованием 50 мкл N,O-бис-(триметилсилил)трифторацетамид (BSTFA) в течение 15 мин при 100 °С. Анализ проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на хроматографе «Маэстро» (Россия) с квадрупольным масс-спектрометром Agilent 5975C (США), колонка HP-5MS, 30 м × 0.25 мм. Для хроматографии использовали линейный градиент температуры от 70 до 320 °С со скоростью 4 °С/мин при потоке газа (гелий) 1 мл/мин. Сбор данных осуществляли с помощью программного обеспечения Agilent ChemStation. Количественную интерпретацию хроматограмм проводили методом внутренней стандартизации по углеводороду C_{23} [13]. Обработка и интерпретация масс-спектрометрической информации проводилась с использованием стандартной библиотеки NIST 2011. Для статистического анализа полученных метаболомных данных была создана матрица, на которой отражены метаболомные профили хвои *L. cajanderi* на исследованных участках. Построенный профиль включал 15 наблюдений по 124 метаболитам. Полученный массив данных был обработан методом дискриминантного анализа частичных наименьших квадратов (PLS-DA) в программе MetaboAnalyst (www.metaboanalyst.ca).

Все аналитические измерения выполнены в трех повторностях. Полученные результаты представлены в виде средней арифметической величины и ее стандартного отклонения ($M \pm SD$). Сравнение средних значений выборок проводили методом ANOVA. Значимость отличий от контроля определяли, используя критерий Ньюмена–Кейлса для множественных сравнений при уровне $P < 0.05$. Для установления статистической взаимосвязи между биохимическими параметрами и суммарным содержанием элементов-поллютантов использовали коэффициент корреляции Пирсона. Расчет проводился с помощью пакета AnalystSoft, StatPlus – программа статистического анализа, Vol.2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что по мере удаления от источника загрязнения содержание кремния, кальция, железа, алюминия, титана, цинка, хрома, никеля и ванадия статистически достоверно уменьшалось в хвое *L. cajanderi* (табл. 1). Следует отметить очень высокое содержание титана в хвое *L. cajanderi* вблизи цементного завода, которое превышало условно фоновое содержание в 37 раз, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [6, 7]. Это может

Таблица 1. Содержание элементов-поллютантов в хвое *Larix cajanderi* на разном удалении от цементного завода
Table 1. Content of pollutants in *Larix cajanderi* needles at different distances from the cement plant

Расстояние, км Distance, km	Si, г кг ⁻¹ g kg ⁻¹	Ca, г кг ⁻¹ g kg ⁻¹	Fe, г кг ⁻¹ g kg ⁻¹	Al, г кг ⁻¹ g kg ⁻¹	Ti, мг кг ⁻¹ g kg ⁻¹	Zn, мг кг ⁻¹ g kg ⁻¹	Cr, мг кг ⁻¹ g kg ⁻¹	Ni, мг кг ⁻¹ g kg ⁻¹	V, мг кг ⁻¹ g kg ⁻¹	Сумма, мг кг ⁻¹ Sum, g kg ⁻¹
1	20 ± 2 ^a	17 ± 1 ^a	1.0 ± 0.1 ^a	0.91 ± 0.06 ^a	296 ± 37 ^a	44 ± 4 ^a	7.0 ± 0.5 ^a	3.6 ± 0.2 ^a	1.5 ± 0.2 ^a	39 ± 3 ^a
2	16 ± 1 ^b	12 ± 1 ^b	0.8 ± 0.1 ^a	0.56 ± 0.05 ^b	108 ± 13 ^b	41 ± 3 ^a	6.5 ± 0.5 ^a	3.2 ± 0.2 ^a	1.3 ± 0.2 ^a	30 ± 2 ^b
3	12 ± 1 ^c	11 ± 1 ^b	0.4 ± 0.0 ^b	0.40 ± 0.05 ^c	15 ± 3 ^c	26 ± 2 ^b	4.9 ± 0.3 ^b	1.6 ± 0.1 ^b	0.9 ± 0.1 ^b	24 ± 1 ^c
4	10 ± 1 ^c	12 ± 1 ^b	0.4 ± 0.1 ^b	0.23 ± 0.03 ^d	16 ± 4 ^c	23 ± 3 ^b	5.2 ± 0.4 ^b	1.6 ± 0.1 ^b	0.6 ± 0.1 ^c	23 ± 1 ^c
8	8 ± 0 ^d	9 ± 1 ^c	0.2 ± 0.0 ^c	0.15 ± 0.03 ^d	8 ± 1 ^d	26 ± 2 ^b	4.2 ± 0.3 ^c	1.4 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.0 ^d	17 ± 1 ^d

Примечание. Средние значения с разными буквенными надстрочными индексами внутри столбца статистически различаются при $p \leq 0.05$ по критерию Ньюмена–Кейлса, $n = 3$.

Note. Different superscript letters within the column indicate statistical differences of the means at $p \leq 0.05$ according to the Newman–Keuls test, $n = 3$.

Таблица 2. Активность супероксиддисмутазы, концентрация малонового диальдегида, рутина и дигидрокверцетина в хвое *Larix cajanderi* на разном удалении от цементного завода

Table 2. Superoxide dismutase activity, concentration of malondialdehyde, rutin and dihydroquercetin in *Larix cajanderi* needles at different distances from the cement plant

Расстояние, км Distance, km	СОД, мкмоль г ⁻¹ мин ⁻¹ SOD, $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$	МДА, мкмоль г ⁻¹ MDA, $\mu\text{mol g}^{-1}$	Рутин, мг г ⁻¹ Rutin, mg g ⁻¹	ДКВ, мг г ⁻¹ DHQ, mg g ⁻¹
1	3.4 ± 0.3 ^a	0.26 ± 0.02 ^a	0.91 ± 0.07 ^a	0.86 ± 0.10 ^a
2	2.9 ± 0.3 ^{a,b}	0.26 ± 0.02 ^a	1.02 ± 0.12 ^a	0.51 ± 0.03 ^b
3	2.6 ± 0.2 ^b	0.19 ± 0.01 ^b	0.71 ± 0.05 ^b	0.46 ± 0.05 ^{b,c}
4	1.7 ± 0.2 ^c	0.18 ± 0.01 ^b	0.62 ± 0.03 ^{b,c}	0.37 ± 0.02 ^c
8	0.3 ± 0.0 ^d	0.14 ± 0.01 ^c	0.58 ± 0.02 ^c	0.29 ± 0.02 ^d

Примечание. Средние значения с разными буквенными надстрочными индексами внутри столбца статистически различаются при $p \leq 0.05$ по критерию Ньюмена–Кейлса, $n = 3$.

Note. Different superscript letters within the column indicate statistical differences of the means at $p \leq 0.05$ according to the Newman–Keuls test, $n = 3$.

быть связано с высокой концентрацией титана в перерабатываемой породе.

Известно, что в результате пылевого загрязнения происходит проникновение поллютантов внутрь растительных клеток, приводящее к повышению генерации активных форм кислорода (АФК) и интенсификации перекисного окисления мембранных полиненасыщенных жирных кислот, ведущее к повышению содержания малонового диальдегида [8, 14]. Результаты наших исследований показали, что по мере приближения к цементному заводу наблюдалось статистически достоверное увеличение в хвое *L. cajanderi* концентрации МДА на 29–86% (табл. 2). Выявлена прямая корреляция между концентрацией МДА в клетках и суммарным содержанием исследованных элементов-поллютантов ($r = 0.92$; $P = 0.02$), что может свидетельствовать об увеличении гене-

рации АФК и свободных радикалов при действии техногенного загрязнения цементной пылью.

Для инактивации АФК и свободных радикалов в растениях развиты сложные антиоксидантные системы защиты [15]. Одним из важнейших их составляющих является фермент супероксиддисмутазы, который катализирует дисмутацию супероксида с образованием кислорода и пероксида водорода [16]. По мере приближения к цементному заводу наблюдалось увеличение активности СОД в хвое *L. cajanderi* в 3.4–6.5 раз (табл. 2). Выявлена прямая взаимосвязь между активностью СОД и суммарным содержанием исследованных элементов-поллютантов ($r = 0.89$; $P = 0.04$), что может свидетельствовать о повышении концентрации супероксид радикалов. Флавоноиды также являются важнейшими низкомолекулярными антиоксидантами растений, которые вносят существенный вклад в защиту организма [17]. Из-

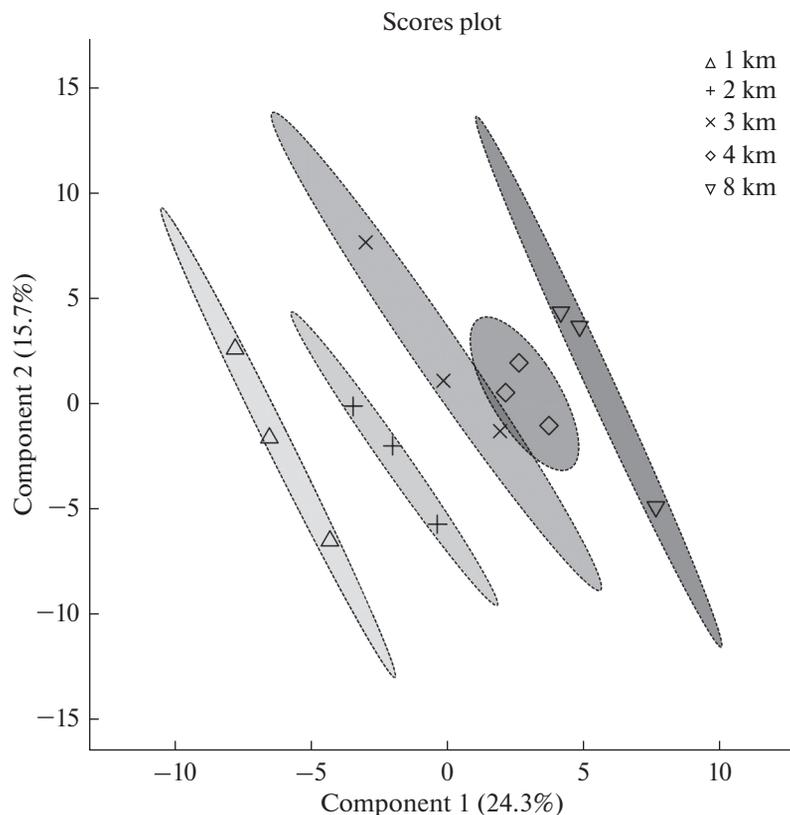


Рис. 1. Распределение метаболомов в хвое *Larix cajanderi* на разном расстоянии от цементного завода, рассчитанное методом дискриминантного анализа частичных наименьших квадратов. Модель построена на основе анализа концентраций 124 метаболитов.

Fig. 1. Distribution of metabolomes in the needles of *Larix cajanderi* at different distances from the cement plant calculated by partial least squares discriminant analysis. The model is based on the analysis of concentrations of 124 metabolites.

вестно, что низкомолекулярные антиоксиданты, в том числе и флавоноиды, участвуют в инактивации свободных радикалов, некоторые из них способны также образовывать с тяжелыми металлами нерастворимые соединения [18]. В хвое *L. cajanderi* зафиксировано увеличение концентрации рутина и дигидрохверцетина (ДКВ) в 1.2–1.7 и 1.3–3.0 раза соответственно по мере приближения к цементному заводу (табл. 2), что, по-видимому, вызвано повышением содержания свободных радикалов и элементов-поллютантов в клетках. Подтверждением этого может служить прямая связь между содержанием рутина ($r = 0.80$; $P = 0.05$) и ДКВ ($r = 0.97$; $P = 0.01$) в хвое *L. cajanderi* и суммарным содержанием элементов-поллютантов.

Таким образом, показано, что при действии цементного загрязнения в хвое *L. cajanderi* повышается генерация АФК и свободных радикалов, вызванная проникновением в клетки элементов-поллютантов. В результате этого происходит усиление интенсивности перекисного окисления липидов и наблюдается ответная защитная реакция организма, которая заключается в активации супероксиддисмутазы и увеличении концентрации

флавоноидов. Вместе с тем, полученные результаты указывают на то, что повышение активности антиоксидантных систем оказывается недостаточным для компенсации повышения интенсивности ПОЛ в результате техногенного загрязнения цементной пылью.

По результатам метаболомного анализа установлено, что точки, являющиеся отражением метаболома хвои *L. cajanderi*, объединились в 5 групп, соответствующих расстоянию от цементного завода (рис. 1). Следует отметить, что полученные группы не перекрываются друг с другом, что может быть вызвано различной техногенной нагрузкой на исследованных участках. Исключением является небольшое перекрытие двух групп метаболомов хвои, собранной на расстоянии 3 и 4 км.

Основными метаболитами, которые оказывали наибольший вклад в разделение групп метаболомов, являлись моносахариды, дисахариды, полиолы, неорганические, органические, жирные и diterпеновые кислоты. Показано, что по мере приближения к цементному заводу наблюдалось уменьшение содержания янтарной, фумаровой и яблочной кислот на 30–58, 22–44 и 21–29% соот-

Таблица 3. Содержание органических, неорганических и свободных жирных кислот в хвое *Larix cajanderi* на разном удалении от цементного завода**Table 3.** Content of organic, inorganic and free fatty acids in *Larix cajanderi* needles at different distances from the cement plant

Расстояние, км Distance, km	Фосфорная кислота, мг г ⁻¹ Phosphoric acid, mg g ⁻¹	Янтарная кислота, мг г ⁻¹ Succinic acid, mg g ⁻¹	Фумаровая кислота, мг г ⁻¹ Fumaric acid, mg g ⁻¹	Яблочная кислота, мг г ⁻¹ Malic acid, mg g ⁻¹	Аскорбиновая кислота, мг г ⁻¹ Ascorbic acid, mg g ⁻¹	Олеиновая кислота, мг г ⁻¹ Oleic acid, mg g ⁻¹	Линолевая кислота, мг г ⁻¹ Linoleic acid, mg g ⁻¹
1	6.0 ± 0.1 ^a	0.22 ± 0.02 ^a	0.23 ± 0.03 ^a	0.75 ± 0.04 ^a	2.3 ± 0.1 ^a	0.39 ± 0.01 ^a	0.35 ± 0.01 ^a
2	6.6 ± 0.4 ^b	0.37 ± 0.02 ^b	0.32 ± 0.03 ^b	0.83 ± 0.06 ^a	2.2 ± 0.1 ^a	0.36 ± 0.01 ^{c,b}	0.11 ± 0.01 ^b
3	6.8 ± 0.5 ^b	0.38 ± 0.02 ^b	0.35 ± 0.03 ^{b,c}	0.98 ± 0.04 ^b	3.4 ± 0.1 ^b	0.34 ± 0.01 ^b	0.10 ± 0.01 ^b
4	7.2 ± 0.4 ^b	0.37 ± 0.05 ^b	0.36 ± 0.02 ^{b,c}	1.01 ± 0.09 ^b	3.5 ± 0.2 ^b	0.28 ± 0.02 ^c	0.09 ± 0.01 ^b
8	8.8 ± 0.4 ^c	0.53 ± 0.02 ^c	0.41 ± 0.02 ^c	1.05 ± 0.09 ^b	4.0 ± 0.4 ^b	0.17 ± 0.02 ^d	0.09 ± 0.02 ^b

Примечание. За 1 мг принят 1 мг TMS-производных идентифицированных соединений. Средние значения с разными буквенными надстрочными индексами внутри столбца статистически различаются при $p \leq 0.05$ по критерию Ньюмена–Кейлса, $n = 3$.

Note. As 1 mg of a compound, 1 mg of its TMS-derivative is taken. Different superscript letters within the column indicate statistical differences of the means at $p \leq 0.05$ according to the Newman–Keuls test, $n = 3$.

ветственно (табл. 3) что, вероятно, вызвано образованием растворимых комплексов исследуемых веществ с металлами [19]. Выявлена обратная корреляция между содержанием янтарной ($r = -0.93$; $P = 0.02$), фумаровой ($r = -0.99$; $P = 0.01$) и яблочной кислот ($r = -0.97$; $P = 0.01$) в хвое *L. cajanderi* и суммарным содержанием элементов-поллютантов. Наблюдаемые эффекты могут свидетельствовать о снижении интенсивности клеточного дыхания при загрязнении цементной пылью, в результате закупоривания устьиц [20]. Вследствие этого, возможно, нарушались энергетические процессы в растительном организме, которые отражались в уменьшении концентрации фосфорной кислоты в хвое *L. cajanderi* на 17–32%. ($r = -0.88$; $P = 0.04$) по мере приближения к цементному заводу.

С приближением к источнику загрязнения наблюдалось достоверное уменьшение (на 12–43%) содержания аскорбиновой кислоты в хвое *L. cajanderi* (табл. 3). Выявлена обратная связь между содержанием аскорбиновой кислоты и суммарным содержанием исследованных элементов-поллютантов ($r = -0.91$; $P = 0.03$), что может быть связано с повышением уровня перекисного окисления липидов. Так, известно, что аскорбиновая кислота способствует инактивации АФК и свободных радикалов [21]. По мере приближения к цементному заводу, концентрация в хвое свободных ненасыщенных жирных кислот, таких как олеиновая и линоленовая, увеличивалась в 1.6–2.3 и 1.2–3.9 раза соответственно. Выявлена прямая связь между содержанием олеиновой ($r = 0.87$; $P = 0.05$) и линоленовой ($r = 0.87$; $P = 0.05$) кислот и суммарным содержанием исследованных элементов-поллютантов. Такие эф-

фекты могут быть вызваны активацией десатураз жирных кислот, возникающих в результате компенсаторных биохимических адаптационных реакций в ответ на повышение интенсивности перекисного окисления липидов [22].

Известно, что клеточная стенка играет важную роль в защите организма при техногенном загрязнении [23]. При интоксикации тяжелыми металлами наблюдается утолщение клеточной стенки [24], так как она предотвращает поступление тяжелых металлов в клетки растения [25, 26]. Наши исследования показали прямую корреляцию между суммарным содержанием элементов-поллютантов и концентрацией галактозы ($r = 0.82$; $P = 0.05$), фруктозы ($r = 0.92$; $P = 0.02$), глюкозы ($r = 0.90$; $P = 0.03$), маннозы ($r = 0.98$; $P = 0.01$), сахарозы ($r = 0.87$; $P = 0.05$), трегалозы ($r = 0.98$; $P = 0.01$) и пинитола ($r = 0.99$; $P = 0.00$) в хвое *L. cajanderi* (табл. 4). Повышение содержания моносахаридов, дисахаридов и пинитола в хвое *L. cajanderi* в результате пылевого загрязнения выбросами цементного завода может быть вызвано утолщением клеточной стенки.

Одними из важнейших метаболитов, участвующих в защите хвойных растений при воздействии абиотических и биотических факторов среды, являются дитерпеновые смоляные кислоты [27, 28]. Наши исследования показали, что по мере приближения к цементному заводу в хвое *L. cajanderi* наблюдалось повышение содержания таких дитерпеновых смоляных кислот, как изопимаровая и дегидроабетиновая в 2.5–4.2 и 1.7–2.7 раз соответственно (табл. 5). Выявлена прямая корреляция между содержанием изопимаровой ($r = 0.97$; $P = 0.01$) и дегидроабетиновой ($r = 0.94$; $P = 0.01$) кислот и суммарным содержанием элементов-

Таблица 4. Содержание моносахаридов, дисахаридов и полиолов в хвое *Larix cajanderi* на разном удалении от цементного завода**Table 4.** Content of monosaccharides, disaccharides and polyols in *Larix cajanderi* needles at different distances from the cement plant

Расстояние, км Distance, km	Галактоза, мг г ⁻¹ Galactose, mg g ⁻¹	Фруктоза, мг г ⁻¹ Fructose, mg g ⁻¹	Глюкоза, мг г ⁻¹ Glucose, mg g ⁻¹	Манноза, мг г ⁻¹ Mannose, mg g ⁻¹	Сахароза, мг г ⁻¹ Sucrose, mg g ⁻¹	Трегалоза, мг г ⁻¹ Trehalose, mg g ⁻¹	Пинитол, мг г ⁻¹ Pinitol, mg g ⁻¹
1	11 ± 1 ^a	40 ± 2 ^a	50 ± 1 ^a	34 ± 2 ^a	53 ± 2 ^a	0.27 ± 0.01 ^a	73 ± 4 ^a
2	11 ± 0 ^a	39 ± 3 ^a	48 ± 3 ^{a,b}	31 ± 2 ^a	47 ± 2 ^a	0.22 ± 0.01 ^a	62 ± 3 ^b
3	11 ± 1 ^a	33 ± 1 ^b	45 ± 1 ^b	26 ± 1 ^b	29 ± 2 ^b	0.17 ± 0.01 ^b	55 ± 1 ^c
4	10 ± 1 ^a	28 ± 1 ^c	37 ± 1 ^c	27 ± 1 ^b	31 ± 1 ^b	0.14 ± 0.01 ^b	55 ± 2 ^c
8	8 ± 1 ^b	26 ± 1 ^c	34 ± 1 ^d	24 ± 1 ^b	33 ± 1 ^b	0.08 ± 0.01 ^c	47 ± 2 ^d

Примечание. За 1 мг принят 1 мг TMS-производных идентифицированных соединений. Средние значения с разными буквенными надстрочными индексами внутри столбца статистически различаются при $p \leq 0.05$ по критерию Ньюмена–Кейлса, $n = 3$.

Note. As 1 mg of a compound, 1 mg of its TMS-derivative is taken. Different superscript letters within the column indicate statistical differences of the means at $p \leq 0.05$ according to the Newman–Keuls test, $n = 3$.

Таблица 5. Содержание изопимаровой и дегидроабетиновой кислот в хвое *Larix cajanderi* на разном удалении от цементного завода**Table 5.** Content of isopimaric and dehydroabietic acids in *Larix cajanderi* needles at different distances from the cement-plant

Расстояние, км Distance, km	Изопимаровая кислота, мг г ⁻¹ Isopimaric acid, mg g ⁻¹	Дегидроабетиновая кислота, мг г ⁻¹ Dehydroabietic acid, mg g ⁻¹
1	0.34 ± 0.02 ^a	0.35 ± 0.03 ^a
2	0.24 ± 0.03 ^b	0.22 ± 0.02 ^b
3	0.21 ± 0.02 ^b	0.23 ± 0.02 ^b
4	0.20 ± 0.02 ^b	0.22 ± 0.01 ^b
8	0.08 ± 0.02 ^c	0.13 ± 0.01 ^c

Примечание. Значения представлены в виде среднего ± стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). За 1 мг принят 1 мг TMS-производных идентифицированных соединений. Средние значения с одинаковыми буквенными надстрочными индексами внутри столбца статистически неразличимы при $p \leq 0.05$ по критерию Ньюмена–Кейлса, $n = 3$.

Note. Values are represented as mean ± standard deviation ($M \pm \sigma$). As 1 mg of a compound, 1 mg of its TMS-derivative is taken. Means with same superscript letters within the column indicate no statistical difference at $p \leq 0.05$ according to the Newman–Keuls test, $n = 3$.

поллютантов. Повышение содержания смоляных кислот в хвое при воздействии выбросов цементного завода обусловлено тем, что они могут участвовать в связывании тяжелых металлов за счет наличия карбоксильных групп. Так, известно, что лимонная, винная, щавелевая, янтарная, аспарагиновая и глутаминовая кислоты образуют растворимые комплексы с металлами, которые способствуют увеличению их подвижности в организме [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что выбросы Мохсоголлохского цементного завода (Республика Саха (Якутия)) приводят к повышению содержания кремния,

кальция, железа, алюминия, титана, цинка, хрома, никеля и ванадия в хвое *Larix cajanderi* Мауг. В результате антропогенного загрязнения цементной пылью в хвое *L. cajanderi* наблюдалось повышение интенсивности ПОЛ, активация механизмов антиоксидантной защиты, синтеза ненасыщенных жирных кислот и ингибирование клеточного дыхания. Проникновение поллютантов в хвою *L. cajanderi* способствовало ответной биохимической реакции, проявляющейся в утолщении клеточной стенки и увеличении содержания дитерпеновых смоляных кислот, которые, возможно, способствовали их связыванию и выведению из растения. Результаты исследования показывают, что техногенное загрязнение окружающей среды,

вызванное деятельностью цементного завода, приводит к существенным изменениям биохимических процессов в хвое *L. cajanderi*.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Рос-

сийской Федерации по проекту “Физиолого-биохимические механизмы адаптации растений, животных, человека к условиям Арктики/Субарктики и разработка биопрепаратов на основе природного северного сырья повышающих эффективность адаптационного процесса и уровень здоровья человека в экстремальных условиях среды” (тема № 0297-2021-0025, ЕГИСУ НИОКТР № АААА-А21-121012190035-9).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азаров В.Н., Маринин Н.А., Барикаева Н.С., Лопатина Т.Н. 2013. О загрязнении мелкодисперсной пылью воздушной среды городских территорий – Биосферная совместимость: человек, регион, технологии. (1): 30–34. [http://biosfera.swsu.ru/archive/bs\(1\).pdf](http://biosfera.swsu.ru/archive/bs(1).pdf)
2. Mutlu S., Atici Ö., Kaya Y. 2009. Effect of cement dust on the diversity and the antioxidant enzyme activities of plants growing around a cement factory. – Fres. Environ. Bull. 18(10): 1823–1827. <https://www.researchgate.net/publication/257727064>
3. Щелчкова М.В., Жерготова М.С. 2014. Влияние пылевых выбросов цементного завода ОАО ПО “Якутцемент” на химические и микробиологические свойства мерзлотных почв. – Проблемы региональной экологии. (5): 31–36. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22927353>
4. Mandre M., Tuulmets L. 1997. Pigment changes in Norway spruce induced by dust pollution. – Wat. Air Soil Poll. 94(3–4): 247–258. <https://doi.org/10.1023/A:1026499523741>
5. Mandre M., Ots K. 2012. Monitoring of heavy metals uptake and allocation in *Pinus sylvestris* organs in alkalisated soil. – Environ. Monit. Assess. 184(7): 4105–4117. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2878-4>
6. Соромотин В.А. 2008. Влияние выбросов цементного завода на растительный покров Центральной Якутии (на примере Мохсоголлохского цементного завода): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Якутск. 21 с
7. Шашурин М.М., Журавская А.Н. 2007. Изучение адаптивных возможностей растений в зоне техногенного воздействия. – Экология. 2: 93–98. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9479221>
8. Erdal S., Demirtas A. 2010. Effects of cement flue dust from a cement factory on stress parameters and diversity of aquatic plants. – Toxicol. Indust. Health. 26(6): 339–343. <https://doi.org/10.1177/0748233710369235>
9. Yakovleva A.I., Okhlopkova E.D., Olesova L.D., Krivoschapkina Z.N., Konstantinova L.I., Grigorieva A.A., Semenova E.I., Efremova A.V., Mironova G.E. 2019. Influence of cement plant emissions on medicinal properties of medicinal plants in Central Yakutia. – Yakut Medical Journal. 66(2): 38–41. <https://doi.org/10.25789/YMJ.2019.66.11>
10. Giannopolitis C.N., Ries S.K. 1977. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. – Plant Physiol. 59(2): 309–314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
11. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. 1972. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М. 252 с.
12. Слепцов И.В., Журавская А.Н. 2016. Динамика накопления флавоноидов в листьях *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa* и *Thlaspi arvense* собранных в Центральной Якутии. – Химия растительного сырья. (3): 67–72. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2016031241>
13. Петрова Н.В., Сазанова К.В., Медведева Н.А., Шаварда А.Л. 2018. Особенности метаболомного профиля на разных стадиях онтогенеза *Prunella vulgaris* (Lamiaceae) при выращивании в климатической камере. – Химия растительного сырья. (3): 139–147. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018033798>
14. Проконьев И.А., Филиппова Г.В., Шейн А.А., Габышев Д.В. 2014. Влияние городского техногенного загрязнения на морфологические, биохимические характеристики и семенную продуктивность ромашки аптечной. – Экология. 1: 22–29. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21092702>
15. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. – Ann. Botan. 91(2): 179–194. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf118>
16. Gill S.S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. – Plant Physiol. Biochem. 48(12): 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
17. Sytar O., Kumar A., Latowski D., Kuczynska P., Strzałka K., Prasad M.N.V. 2013. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. – Acta Physiol. Plant. 35(4): 985–999. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1169-6>

18. Michalak A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. — Pol. J. Environ. Stud. 15(4): 523–530. <http://www.pjoes.com/Phenolic-Compounds-and-Their-Antioxidant-Activity-in-Plants-Growing-under-Heavy-Metal,87899,0,2.html>
19. Yang R.B., Zeng Q.R., Zhou X.H., Tie B.Q., Liu S.Y. 2000. The activated impact of plant root exudates on heavy metals in soils contaminated by tailing of lead-zinc ore. — Agro Environ. Protec. 19(3): 152–155.
20. Ильин В.Б. 1991. Тяжелые металлы в системе почва–растение. Новосибирск. 151 с.
21. He Y.Y., Häder D.P. 2002. UV-B-induced formation of reactive oxygen species and oxidative damage of the cyanobacterium *Anabaena* sp.: protective effects of ascorbic acid and *N*-acetyl-L-cysteine. — J. Photochem. Photobiol. B: Biology. 66(2): 115–124. [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(02\)00231-2](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(02)00231-2)
22. Hochachka P.W., Somero G.N. 1984. Biochemical adaptation. New Jersey. 537 p. <https://doi.org/10.1515/9781400855414>
23. Macfie S.M., Welbourn P.M. 2000. The cell wall as a barrier to uptake of metal ions in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae). — Arch. Environ. Contam. Toxicol. 39(4): 413–419. <https://doi.org/10.1007/s002440010122>
24. Wierzbicka M. 1998. Lead in apoplast of *Allium cepa* L. root tips — ultrastructural studies. — Plant Sci. 133(1): 105–119. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(98\)00023-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(98)00023-5)
25. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. 2012. Устойчивость растений к кадмию. Петрозаводск. 54 с.
26. Regvar M., Vogel-Mikuš K. 2008. Recent advances in understanding of plant responses to excess metals: exposure, accumulation, and tolerance. — In: Sulfur Assimilation and Abiotic Stress in Plants. Berlin, Heidelberg. P. 227–251. https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-540-76326-0_11
27. Langenheim J.H. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. — J. Chem. Ecol. 20(6): 1223–1280. <https://doi.org/10.1007/BF02059809>
28. Keeling C.I., Bohlmann J. 2006. Diterpene resin acids in conifers. — Phytochemistry. 67(22): 2415–2423. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.08.019>

Impact of Cement Plant Emissions on Metabolites in the Needles of *Larix cajanderi* (Pinaceae) of the Republic of Sakha (Yakutia)

I. V. Sleptsov^{a,*}, S. M. Rozhina^a, V. V. Mikhailov^a

^a*Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia*

*e-mail: neroxasg@mail.ru

Abstract—The effect of cement works emissions on the metabolite content in *Larix cajanderi* Mayr needles was investigated. It was shown that content of polluting substances, such as silicon, calcium, iron, aluminum, titanium, zinc, chromium, nickel and vanadium in larch needles increased closer to the cement plant. Higher concentrations of pollutants in *L. cajanderi* needles indicate anthropogenic nature of the atmospheric pollution caused by Mokhsogollokh Cement Works emissions. The concentration of malondialdehyde in the needles of *L. cajanderi* increased due to the formation of reactive oxygen species and free radicals caused by the penetration of heavy metals from the cement dust. Increase in lipid peroxidation initiated an increase in the content of free unsaturated fatty acids, which appeared to be a biochemical compensatory response induced by aerial emissions from the cement plant. With increase in industrial pollution, the mechanisms of antioxidative defense were activated and expressed in a decrease in the content of ascorbic acid and in an increase in the activity of superoxide dismutase and concentration of rutin and dihydroquercetin in the needles. Decrease in the concentration of succinic, fumaric and malic acids under the industrial emission inhibited tricarboxylic acid cycle which could be confirmed by a decrease in the amount of phosphoric acid in *L. cajanderi* needles. It was shown that as a result of cement dust pollution, there was an increase in the content of monosaccharides, disaccharides and pinitol in the needles of *L. cajanderi*, which could be caused by the cell wall thickening due to the penetration of heavy metals. A recorded increase in the content of resin acids, such as isopimaric acid and dehydroabiatic acid, may indicate their protective function, when exposed to cement dust emission. Thus, direct industrial pollution from the operation of the Mokhsogollokh Cement Works leads to an increase in the level of lipid peroxidation, activation of antioxidant systems, inhibition of cellular respiration processes, thickening of the cell wall and an increase in the content of resin acids in *L. cajanderi* needles.

Keywords: *Larix cajanderi*, needles, cement plant, industrial pollution, flavonoids, lipid peroxidation, metabolic profile

ACKNOWLEDGEMENTS

The present study was carried out within the framework of the institutional research project (n. AAAA-A17-117020110055-3) of the Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS.

REFERENCES

1. Azarov V.N., Marinin N.A., Barikaeva N.S., Lopatina T.N. 2013. Air pollution by highly dispersed dust in urban areas – Biospheric Compatibility: Human, Region, Technologies. (1): 30–34. [http://biosfera.swsu.ru/archive/bs\(1\).pdf](http://biosfera.swsu.ru/archive/bs(1).pdf) (In Russian)
2. Mutlu S., Atici Ö., Kaya Y. 2009. Effect of cement dust on diversity and antioxidant enzyme activities of plants growing around a cement factory. – Fres. Environ. Bull. 18(10): 1823–1827. <https://www.researchgate.net/publication/257727064>
3. Shchelchkova M.V., Zhergotova M.S. 2014. Impact of the dust emissions of the Open Joint Stock Company “Yakutcement” on chemical and microbiological properties of permafrost soils. – Problemy Regional’noj Ekologii. (5): 31–36. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22927353> (In Russian)
4. Mandre M., Tuulmets L. 1997. Pigment changes in Norway spruce induced by dust pollution. – Wat. Air Soil Poll. 94(3–4): 247–258. <https://doi.org/10.1023/A:1026499523741>
5. Mandre M., Ots K. 2012. Monitoring of heavy metals uptake and allocation in *Pinus sylvestris* organs in alkalised soil. – Environ. Monit. Assess. 184(7): 4105–4117. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2878-4>
6. Soromotin V.A. 2008. [Impact of cement plant emissions on the vegetation cover of Central Yakutia (by the example of the Mokhsogollokh cement plant): Abstr. ... Dis. Cand. (Biology) Sci.] Yakutsk. 21 p. (In Russian)
7. Shashurin M.M., Zhuravskaya A.N. 2007. Analysis of adaptive capacities of plants in the zone of technogenic impact. – Rus. J. Ecol. 38(2): 85–89. <https://doi.org/10.1134/S1067413607020038>
8. Erdal S., Demirtas A. 2010. Effects of cement flue dust from a cement factory on stress parameters and diversity of aquatic plants. – Toxicol. Indust. Health. 26(6): 339–343. <https://doi.org/10.1177/0748233710369235>
9. Yakovleva A.I., Okhlopkova E.D., Olesova L.D., Krivoshapkina Z.N., Konstantinova L.I., Grigorieva A.A., Semenova E.I., Efremova A.V., Mironova G.E. 2019. Influence of cement plant emissions on medicinal properties of medicinal plants in Central Yakutia. – Yakut Medical Journal. 66(2): 38–41. <http://ymj.mednauka.com/files/YMJ-2-2019-en.pdf>
10. Giannopolitis C.N., Ries S.K. 1977. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants. – Plant Physiol. 59(2): 309–314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
11. Vladimirov Yu.A., Archakov A.I. 1972. [Lipid peroxidation in biological membranes]. Moscow. 252 p. (In Russian)
12. Sleptsov I.V., Zhuravskaya A.N. 2016. Dynamics of accumulation in leaves flavonoids *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa*, and *Thlaspi arvense* in the Central Yakutia. – Khimija Rastitel’nogo Syr’ja. (3): 67–72. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2016031241> (In Russian)
13. Petrova N.V., Sazanova K.V., Medvedeva N.A., SHavarda A.L. 2018. Metabolomic profile at the different stages of *Prunella vulgaris* (Lamiaceae) ontogenesis at growing in the climate chamber – Khimija Rastitel’nogo Syr’ja. (3): 139–147. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018033798> (In Russian)
14. Prokop’ev I.A., Filippova G.V., Shein A.A., Gabyshev D.V. 2014. Impact of urban anthropogenic pollution on seed production, morphological and biochemical characteristics of chamomile, *Matricaria chamomila* L. – Russ. J. Ecol. 45(1): 18–23. <https://doi.org/10.1134/S106741361306009X>
15. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. – Ann. Botan. 91(2): 179–194. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf118>
16. Gill S.S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. – Plant Physiol. Biochem. 48(12): 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
17. Sytar O., Kumar A., Latowski D., Kuczynska P., Strzałka K., Prasad M.N.V. 2013. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. – Acta Physiol. Plant. 35(4): 985–999. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1169-6>
18. Michalak A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. – Pol. J. Environ. Stud. 15(4): 523–530. <http://www.pjoes.com/Phenolic-Compounds-and-Their-Antioxidant-Activity-in-Plants-Growing-under-Heavy-Metal,87899,0,2.html>

19. Yang R.B., Zeng Q.R., Zhou X.H., Tie B.Q., Liu S.Y. 2000. The activated impact of plant root exudates on heavy metals in soils contaminated by tailing of lead-zinc ore. – *Agro Environ. Protec.* 19(3): 152–155.
20. Il'in V.B. 1991. [Heavy metals in the soil – plant system]. Novosibirsk. 151 p. (InRussian)
21. He Y.Y., Häder D.P. 2002. UV-B-induced formation of reactive oxygen species and oxidative damage of the cyanobacterium *Anabaena* sp.: protective effects of ascorbic acid and *N*-acetyl-L-cysteine. – *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* 66(2): 115–124.
[https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(02\)00231-2](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(02)00231-2)
22. Hochachka P.W., Somero G.N. 1984. Biochemical adaptation. New Jersey. 537 p.
<https://doi.org/10.1515/9781400855414>
23. Macfie S.M., Welbourn P.M. 2000. The cell wall as a barrier to uptake of metal ions in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (*Chlorophyceae*). – *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39(4): 413–419.
<https://doi.org/10.1007/s002440010122>
24. Wierzbicka M. 1998. Lead in apoplast of *Allium cepa* L. root tips – ultrastructural studies. – *Plant Sci.* 133(1): 105–119.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(98\)00023-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(98)00023-5)
25. Titov A.F., Kaznina N.M., Talanova V.V. 2012. [Cadmium resistance of plants]. Petrozavodsk. 54 p. (InRussian)
26. Regvar M., Vogel-Mikuš K. 2008. Recent advances in understanding of plant responses to excess metals: exposure, accumulation, and tolerance. – In: *Sulfur Assimilation and Abiotic Stress in Plants*. Berlin, Heidelberg. P. 227–251.
https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-540-76326-0_11
27. Langenheim J.H. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. – *J. Chem. Ecol.* 20(6): 1223–1280.
<https://doi.org/10.1007/BF02059809>
28. Keeling C.I., Bohlmann J. 2006. Diterpene resin acids in conifers. – *Phytochemistry.* 67(22): 2415–2423.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.08.019>