

УДК 581.1

Г. С. Россихіна-Галича, Ю. В. Лихолат, Н. О. Лисенко

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара*

## ФУНКЦІОНУВАННЯ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНАХ *ROBINIA PSEUDOACACIA L.* ЗА УМОВ ПРОМИСЛОВОГО МІСТА

Досліджено зміни активності антиоксидантних ферментів у стиглому насінні *Robinia pseudoacacia L.* в умовах антропогенно забрудненого м. Дніпропетровськ. Установлено, що аерополлютанти урбоценозів інтенсифікують процеси ПОЛ. Виявлені у насінні зміни активності ферментів-детоксикаторів вільних радикалів мали адаптивну спрямованість. Показано, що недостатня активність пероксидази може призвести до захисної активації каталази.

*Ключові слова:* *Robinia pseudoacacia L.*, репродуктивні органи, аерополлютанти, антиоксидантні ферменти, супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза.

Исследовано изменения активности антиоксидантных ферментов в спелых семенах *Robinia pseudoacacia L.* в условиях антропогенно загрязненного г. Днепропетровск. Установлено, что аерополлютанты урбоценозов интенсифицируют процессы ПОЛ. Обнаруженные в семенах изменения активности ферментов-детоксикаторов свободных радикалов имели адаптивную направленность. Показано, что недостаточная активность пероксидазы может привести к защитной активации каталазы.

*Ключевые слова:* *Robinia pseudoacacia L.*, репродуктивные органы, аерополлютаты, антиоксидантные ферменты, супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза.

**The changes of antioxidant enzymes activity in the ripe seed of *Robinia pseudoacacia L.* in condition of anthropogenic pollution in Dnipropetrovsk were investigated. It is set that aeropollutants of urbocenoses intensify POL processes. In the seeds changes of enzymes-detoxicities activity of free radicals had an adaptive orientation were discovered. It is shown that insufficient activity of *peroxidase* can result in the protective activating of *catalase*.**

*Key words:* *Robinia pseudoacacia L.*, reproductive organs, aeropollutants, antioxidant enzymes, superoxide dismutase, catalase, peroxidase.

Особливість міського середовища полягає в тому, що, зазнаючи суттєвого впливу комплексу антропогенних факторів, воно починає самостійно діяти на природні системи та людину [2]. Міське середовище різко відрізняється від природного освітлення, величиною сонячної радіації, температурою і вологістю повітря й ґрунту [7].

Важливу роль в екологічній оптимізації міського середовища і створення сприятливого мікроклімату виконують міські насадження. Вони очищують повітряний басейн міста від пилу, шкідливих газів, диму, кіптяви; як діючі компоненти середовища можуть виступати в ролі індикаторів, що характеризують стан оточуючого середовища. В оцінці ступеня забруднення урбанізованого середовища не можна розраховувати лише на фізико-хімічні показники атмосферного повітря й ґрунту, оскільки ці дані не дають повного уявлення про стан довкілля. Необхідно застосовувати принципи біомоніторингу, які пропонують проведення комплексних досліджень із застосуванням у якості тест-об'єктів живих організмів (у наших дослідженнях рослин), у яких простежується чітка закономірність змін певних показників у залежності від інтенсивності техногенного навантаження.

В умовах урбанізованого середовища трансформації зазнають у першу чергу біохімічні реакції, фізіологічні процеси, як наслідок – морфоструктура рослин. Ступінь ураженості рослини залежить від двох факторів – концентрації токсичної речовини і тривалості його дії [6].

Окремі аспекти процесів росту та розвитку деревних та трав'янистих рослин в умовах міста досліджувала значна кількість вчених [3; 15; 16; 17, 18], але особливості змін ферментативної активності компонентів антиоксидантного захисту репродуктивних органів рослин, які формувалися за комплексного антропогенного забруднення міського середовища, вивчені недостатньо.

Натепер недостатньо даних для того, щоб скласти повне уявлення про функціональний стан насіння деревних рослин, яке сформувалося в умовах забруднення середовища аерополітантами. Не досліджена ферментативна активність антиоксидантної системи насіння деревних рослин на вплив екологічних умов, за яких формувалось насіння.

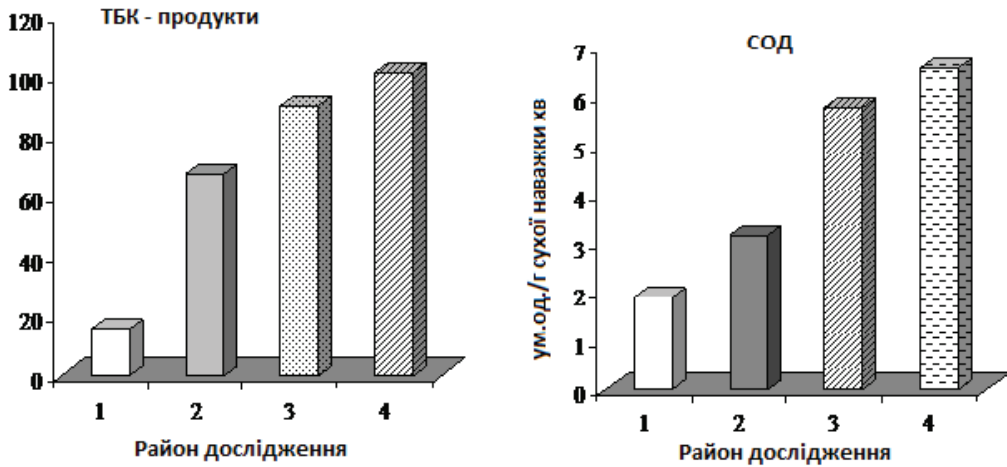
Завданням нашого дослідження було визначення активності ключових окисно-відновних ферментів у стиглому насінні *Robinia pseudoacacia* L., що зростали в різних умовах урбанізованого середовища.

**Об'єкти та методи дослідження.** Об'єктом наших досліджень обрано одну з найпоширеніших на території Дніпропетровська деревних порід – *Robinia pseudoacacia* L. Насіння відбирали на моніторингових ділянках у с. Першотравенка (чиста зона – контроль) та в окремих точках основних автомагістралей міста: пр. К. Маркса, пр. Кірова, вул. Героїв Сталінграда.

Вміст ТБК-активних продуктів визначали за М. М. Мусієнком [9]. Активність СОД оцінювали фотоелектроколориметрично за ступенем інгібування відновлення нітросинього тетразолію за І. О. Переслегіною [11], каталази – за кількістю розкладеного перекису водню титриметрично за Б. П. Плешковим [12], бензидинпероксидази – за швидкістю реакції окислення бензидину [7]. Статистичну обробку результатів, отриманих у триразовій повторності, здійснено за допомогою пакета Microfoft Statistica 6.0. Розбіжності між вибірками вважали значущими при  $p \leq 0,05$ .

**Результати дослідження.** Особливу роль в оптимізації та покращенні мікроклімату міського середовища Придніпров'я відіграють зелені насадження, де поряд із трав'янистими рослинами значну частину складають деревні. Уловлюючи кіптяву, важкі метали та різноманітні шкідливі гази, вони зменшують шкідливий вплив антропогенного навантаження міста [8]. Вплив токсичних сполук призводить до зростання у рослинах вмісту активних форм кисню та прискорення катаболічних реакцій [16].

У результаті проведених досліджень встановлено зміни ферментативної активності антиоксидантної системи стиглого насіння *Robinia pseudoacacia*, які зростали в різних екологічних умовах промислового міста. За отриманими даними, аерополітанти, індукуючи інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, призводили до збільшення, порівняно з контрольними зразками, кількісного вмісту ТБК-активних продуктів (маркеру переокиснення жирів і оксидативного стресу) у насінні досліджуваних рослин. При цьому зміни вмісту ТБК-активних продуктів залежали від району їх зростання. Так, інтенсивність ліпопероксидації у репродуктивних органах рослин, що зазнали комплексного хронічного впливу антропогенних чинників на узбіччі вул. Г. Сталінграда, була максимальною (відмічено зростання у 6,7 разів порівняно з рослинами контрольного варіанта). Для насіння, зібраного на пр. К. Маркса, цей показник зростав у 6 разів, а на пр. Кірова – в 4 рази відносно рослин контрольного варіанта (рис.1).



**Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів та активність супероксиддисмутази у насінні *Robinia pseudoacacia* L. за різних умов зростання**

Варіанти досліду (тут і далі): 1 – с. Першотравенка; 2 – пр. Кірова; 3 – пр. К.Маркса; 4 – вул. Г. Сталінграда

Зареєстрована нами інтенсифікація процесів ПОЛ призводила до запуску неспецифічних механізмів захисту клітин, а це, передусім, супроводжувалося змінами активності ферментів антиоксидантної системи, зокрема, супероксиддисмутази, каталази й пероксидази.

Основні зміни активності супероксиддисмутази в насінні *Robinia pseudoacacia* L. представлені на рис 1. Максимальний показник ферментативної активності (6,57 ум. од./г маси сухої речовини) спостерігали у разі впливу чинників антропогенної природи на вул. Г. Сталінграда, який в 3,5 рази перевищувала контрольний рівень. Дещо нижчий рівень активності ензиму мало стигле насіння рослин, які зростали на пр. К. Маркса й пр. Кірова – у цих варіантах активність ферменту зростала в 3,0 та 1,7 рази, відповідно.

Оскільки літературні дані свідчать про роль СОД у захисті рослин від окисної деструкції [4], то встановлений нами підвищений рівень активності ферменту у насінні *Robinia pseudoacacia* L. носить пристосувальний характер і спрямований на руйнування супероксидного радикалу. Відносно висока активність ензиму могла бути результатом підвищеної експресії його гена.

У результаті реакції, яку каталізує СОД, утворюється пероксид водню, руйнування якого здійснюється системою, що включає каталазу або пероксидазу. Ці ферменти каталізують двоелектронне відновлення  $H_2O_2$  до води, використовуючи як донор електрона пероксид водню у випадку каталази та різних відновників у випадку пероксидази [14].

Одним із найважливіших ферментів антиоксидантного захисту є каталаза, що каталізує реакцію перетворення пероксиду водню на воду та кисень. На відміну від пероксидаз, цей фермент не потребує відновленого субстрату для активності. Зниження активності каталази призводить до утворення реакційно агресивного ініціатора ПОЛ – гідроксильного радикалу – і може бути діагностичною ознакою чутливості рослин до антропогенних навантажень [13].

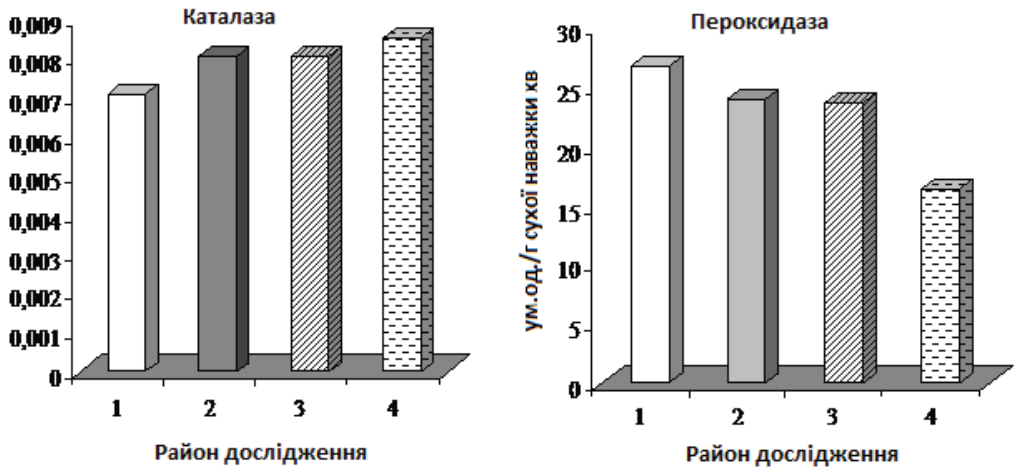


Рис. 2. Активність каталази й пероксидази у насінні *Robinia pseudoacacia* L. за різних умов зростання

Проведені дослідження ферменту дали змогу встановити високий рівень його активності (зростання на 13–20 %) у насінні з усіх моніторингових ділянок (рис. 2). Цей факт, імовірно, пов'язаний із впливом антропогенної компоненти на окисно-відновні процеси, які характерні для рослин, що зазнали дії аерополітантів, і включення інших систем утилізації перексиду водню. Клітинні механізми дезактивації різних активних форм кисню можуть замінювати, доповнювати й дублювати один одного [5]. Припускається, що недостатня активність будь-якої з ланок антиоксидантного захисту може призвести до активації іншої ланки.

Окрім каталази,  $H_2O_2$  дезактивується різноманітними пероксидазами. Цей ензим як один із маркерних ферментів практично першим активується у відповідь на стрес, бере участь в окиснювально-відновних реакціях фотосинтезу, процесах дихання, метаболізмі білків і регулюванні процесів росту, катаболізмі фенольних сполук тощо [1].

Активність пероксидази у насінні *Robinia pseudoacacia* L. за хронічної дії стресорів була зниженою відносно контролю на 11 % – пр. Кірова, 12 % – пр. К. Маркса та 39 % – вул. Г. Сталінграда (рис.2). З урахуванням літературних даних це можна пояснити тим, що у разі хронічної дії аерополітантів на рослину в тканинах насіння даного виду починають діяти інші адаптаційні механізми [10].

**Висновки.** Виявлено, що хронічний вплив аерополітантів приводив до інтенсифікації процесів пероксидного окиснення ліпідів у насінні *Robinia pseudoacacia* L. в умовах урбофітоценозу м. Дніпропетровська.

Встановлено, що для підтримки окисно-відновного гомеостазу у насінні дослідних організмів за стресових умов існування відбувалося за рахунок збільшення активності супероксиддисмутази і каталази та зниження пероксидази.

Показано, що показники вмісту ТБК-продуктів й активності СОД, каталази та пероксидази можна з великим ступенем достовірності використовувати для оцінки стану рослин у стресових умовах та їх стійкості до аеротехногенного забруднення.

## Бібліографічні посилання

1. **Андреева В. А.** Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений / В. А. Андреева. – М. : Наука, 1988. – 128 с.
2. **Бухарина И. Л.** Биоэкологические особенности травянистых и древесных растений в городских насаждениях: монография / И. Л. Бухарина, А. А. Двоглазова. – Ижевск : Изд-во «Удмурдский университет», 2010. – 184 с.
3. **Грицай З. В.** Насіннева продуктивність деревних рослин в умовах забруднення довкілля викидами металургійного підприємства / З. В. Грицай, О. Г. Динесенко // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Серія Біологія. Екологія. – 2011. – Вип. 19, Т. 2. – С. 40–44.
4. **Клеточные** механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / Е. Л. Кордюм, К. М. Сытник, В. В. Бараненко, Н. А. Белявская, Д. А. Климчук, Е. М. Недуха – К. : Наук. думка, 2003. – 270 с.
5. **Колупаев Ю. С.** Регуляция активности каталазы в coleoptilyax пшеницы: возможная роль ионов  $Ca^{2+}$  и кальмодулина / Ю. Е. Колупаев, Ю. В. Карпец // Вісник Харків. нац. аграр. ун-ту. Серія біологія. – 2008. – Вип. 1 (12). – С. 15–21.
6. **Курбатова А. С.** Экология города / А. С. Курбатова, В. Н. Башкина, Н. С. Касим ов. – М. : Научный мир, 2004. – 624 с.
7. **Методы** биохимического исследования растений / под ред. А. И. Ермакова, 3-е изд. – Л. : Агропромиздат, 1987. – 430 с.
8. **Лихолат Ю. В.** Морфо-фізіологічні особливості квітково-декоративних рослин з території шахти «Степова» / Ю. В. Лихолат, Г. С. Россихіна, Н. С. Найданова // Таврійський науковий вісник. – 2010. – Вип. 71, ч. 3. – С. 130–135.
9. **Мусієнко М. М.** Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин / М. М. Мусієнко, Т. В. Паршикова, П. С. Славний. – К. : Фітосоціоцентр, 2001. – 200 с.
10. **Пацула О. І.** Пристосування *Helianthus annuus* L. до токсичної дії кадмію за участю пероксидази / О. І. Пацула // Наук вісник Ужгород ун-ту: Серія біологія. – 2006. – Вип. 18. – С. 30–34.
11. **Переслегина И. А.** Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей / И. А. Переслегина // Лабораторное дело. – 1989. – № 11. – С. 20–23.
12. **Плешков Б. П.** Практикум по биохимии растений / Б. П. Плешков. – М. : Колос, 1968. – 183 с.
13. **Половникова М. Г.** Активность компонентов антиоксидантной защиты и полифенолоксидазы у газонных растений в онтогенезе в условиях городской среды / М. Г. Половникова, О. Л. Воскресенская // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 5. – С. 777–785.
14. **Прайор У.** Свободные радикалы в биологии / У. Прайор. – М. : Мир, 1979. – Т. 2. – 240 с.
15. **Россихіна-Галича Г. С.** Пероксидазна активність насіння представників роду *Acer* L., що зростають в умовах хронічної дії антропогенних агентів / Г. С. Россихіна // Найновітє постиження на європейска та наука – 2012: Матер. За VIII междунар. науч–практ. конф. – София, 2012. – С. 6–8.
16. **Россихіна Г. С.** Морфо-фізіологічні параметри при адаптації газоутворюючих трав до дії свинцю [Електронний ресурс] / Г. С. Россихіна, Ю. В. Лихолат, О. М. Вінниченко // Наукові доповіді НУБіП. – 2010. – №5 (21). Режим доступу : [http://www.nbu.gov.ua/e-journals /Nd/2010\\_5/10rgslfg.pdf](http://www.nbu.gov.ua/e-journals /Nd/2010_5/10rgslfg.pdf).
17. **Філонік І.О.** Склад ліпідів у насінні гірококаштана звичайного, клена гостролистого та дуба звичайного в умовах Дніпропетровського регіону / І.О. Філонік, Л.Ф. Заморуєва, А. А. Кисла // Вісник Дніпропетровського ун-ту. Серія. Біологія. Екологія. – 2010. – Т. 2, Вип. 18. – С. 112–119.
18. **Хромих Н. О.** Стан глутатіон-залежної системи *Aesculus hippocastanum* за умов антропогенного забруднення / Н. О. Хромих // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 58. – С. 265–270.

Надійшла до редакції 11.02.2014