

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНА РІВНОВАГА НАСІННЯ *FRAXINUS EXCELSIOR* L. В УМОВАХ МІСЬКОГО СЕРЕДОВИЩА

Г. Россихіна-Галича

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара,
Науково-дослідний інститут біології
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

У насінні ясеня звичайного (*Fraxinus excelsior* L.) з урбофітоценозу м. Дніпропетровська визначено вміст ТБК-активних продуктів і рівні активності супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1), каталази (КФ 1.11.1.6) і пероксидази (КФ 1.11.1.7). Установлено зростання вмісту продуктів ліпопероксидації й активності каталази в 1,1–1,3 рази та зниження активності СОД у 2–3 рази й пероксидази в 1,6–2,6 рази в насінні міського фітоценозу порівняно з умовним контролем. Зроблено висновок про активацію процесів пероксидації й активності каталази в насінні ясеня звичайного як пристосувальну реакцію рослинного організму до екологічних умов антропогенно забруднених урбофітоценозів.

Ключові слова: *Fraxinus excelsior* L., аерополютанти, супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, пероксидаза, малоновый діальдегід.

Міські урбоценози є прикладом комплексного впливу негативних природних і антропогенних стресорів на ріст і розвиток рослин, їхню здатність до репродукції. Репродуктивна стратегія є головним чинником реалізації адаптивних можливостей виду, його ефективного відтворення та розповсюдження. Виявлення видів рослин, що мають високий рівень екологічної адаптації та пластичності до умов урбосередовища, – важливе завдання сучасності [7]. Актуальними на даний час стають питання реконструкції та відновлення міських насаджень. У зв'язку з цим важливим є вивчення впливу міського середовища на насінневе розмноження та продуктивність рослин, що дає змогу оцінити фізіологічну пластичність біологічного виду за певних екологічних умов, визначити толерантність видів рослин до дії негативних факторів і запропонувати асортимент стійких рослин для озеленення промислового міста [15].

Деякі аспекти стану насіння деревних рослин в умовах міста є вивченими, наприклад, зменшення морфометричних характеристик насіння [2, 6, 20], появи великої кількості пустого насіння [4], зниження вмісту в насінні крохмалю, сахарози та жирів [2], зниження активності амінотрансфераз і зміни їх ізоферментного складу [3], редукція вмісту легкорозчинних білків та пригнічення активності інгібіторів протеїназ [18], зростання пулу відновленого глутатіону й активності глутатіон-S-трансферази і глутатіон-редуктази [19], але адаптивні особливості стану прооксидантно-антиоксидантної рівноваги насіння деревних рослин в умовах урбосередовища вивчені недостатньо. Захисні механізми рослин не просто забезпечують виживання організмів, а й спрямовані на реалізацію онтогенетичної програми при тривалому впливі забруднюючого чинника. Значну роль у реакціях-відповідях рослин на несприятливі умови середовища відіграють саме окисно-відновні процеси, зокрема реакції, що відбуваються за участю кисневих радикалів. У клітинах існує динамічна рівновага (про-/антиоксидантна) між утворенням активних форм кисню (АФК) та їх ліквідацією, яка здійснюється за допомогою багатокомпонентної

системи антиоксидантного захисту. До її найважливіших високомолекулярних компонентів, які безпосередньо знешкоджують АФК, є СОД, каталаза та пероксидази. Оскільки роботи, що розглядають зміни про-/антиоксидантної рівноваги в насінні деревних рослин в умовах міського середовища, практично відсутні, то нашою метою було дослідити активність ключових антиокисно-відновних ферментів і вміст ТБК-активних продуктів у репродуктивних органах ясеня звичайного.

Матеріали та методи

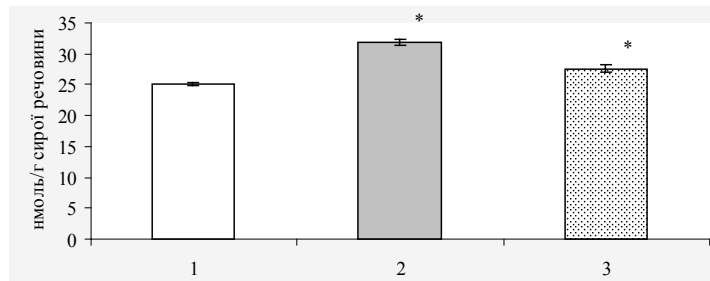
Як тест-об'єкт було обрано один із найбільш поширених на території м. Дніпропетровська, видів ясеня (*Fraxinus L.*) – ясеня звичайний (*Fraxinus excelsior L.*). Для визначення фізіолого-біохімічних показників з дорослих рослин ясеня збирали стигле насіння на ділянках: I – Ботанічний сад Дніпропетровського національного університету ім. О. Гончара (умовний контроль), II – пр. Гагаріна, III – вул. Г. Сталінграда. Усереднена проба для кожної ділянки формувалась із насіння від 5–10 дерев одного вікового стану, яке висушували за кімнатної температури до постійної ваги. Інтенсивність процесів ПОЛ визначали за вмістом ТБК-активних продуктів спектрофотометричним методом [16], що ґрунтується на визначенні концентрації забарвленого комплексу, який утворюється в результаті реакції малонового діальдегіду (МДА) з 2 молекулами тіобарбітурової кислоти у кислому середовищі при температурі 99–100°C. Ферментативну активність СОД (КФ 1.15.1.11) оцінювали за рівнем гальмування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію у присутності нікотинамідаденіндинуклеотиду та феназинметасульфату [12]. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за кількістю розкладеного пероксиду водню під дією ферменту [13], а бензидин-пероксидази (КФ 1.11.1.7) – за швидкістю реакції окислення бензидину до утворення продукту синього кольору згідно з методом, описаним А. Н. Бояркіним [10]. Статистичну обробку даних проведено за допомогою статистичного пакету Microsoft Excel 2000, різницю між вибірками вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Відомо, що зростання деревних рослин в урбофітоценозах, які характеризуються підвищеним вмістом газоподібних поллютантів у повітрі та важких металів у ґрунтах, пов'язане з низкою наслідків, що виявляються не лише на морфологічному, але і на фізіологічному рівні [5]. Для оцінки фізіологічного стану насіння *Fraxinus excelsior L.* проводили визначення рівня ТБК-активних продуктів, які відображають вміст МДА. Дослідження показало, що його вміст збільшувався в умовах урбоекосистеми в 1,3–1,1 разу у зразках II та III ділянки відповідно (див. рисунок).

Відомо, що одним із продуктів вільнорадикального окислення біополімерів є МДА, який слугує маркером окисного стресу. МДА утворюється при атакуванні синглетним киснем ($O_2^{\cdot-}$) та гідроксил-радикалом ($\cdot OH$) молекул поліненасичених жирних кислот, зокрема лінолевої в 9-, 12-, 13-, 16-положеннях для $\cdot OH$, та в 9-, 10-, 21-, 13-, 15-, 16-положеннях для $O_2^{\cdot-}$ [8]. Можна припустити, що суттєве зростання вмісту МДА у насінні ясеня звичайного із забруднених ділянок свідчить про те, що аерополлютанти індукували інтенсивність процесів пероксидного окислення ліпідів і, як наслідок, інтенсифікацію прискорення старіння. Слід зазначити, що отримані нами результати узгоджуються з даними К. Тянь [17] і J.M. Sung [33] для насіння *Glycine max L.*, а також С. Bailly зі співавторами [23] для насіння *Helianthus annuus*. Ці автори показали, що прискорене старіння індукує накопичення МДА.

Ці зміни відображаються на рівні протекторних сполук насіння ясеня звичайного. Так, комплекс умов м. Дніпропетровська з високим рівнем техногенного забруднення [21] призводить до зміни активності ключових ферментів-антиоксидантів (СОД, КАТ і ПО) з утворенням пероксиду водню та молекулярного кисню.



Вміст малонового діальдегіду в стиглому насінні *Fraxinus excelsior* L., зібраному на ділянках: 1 – ботанічний сад (умовний контроль); 2 – пр. Гагаріна; 3 – вул. Г. Сталінграда. * – достовірна різниця зі значенням контролю.

Основну роль у зниженні рівня супероксидного радикала відіграє супероксид-дисмутаза, яка каталізує реакцію дисмутації $O_2^{\cdot-}$ з утворенням пероксиду водню та молекулярного кисню. Літературні дані свідчать про тісний зв'язок між стійкістю рослин до того чи іншого впливу та підвищеною активністю СОД, тобто посиленою здатністю клітин і тканин знешкоджувати активні форми кисню [1, 9]. Нами встановлено у репродуктивних органах *Fraxinus excelsior* L. із антропогенно забруднених територій достовірно зниження активності даного ферменту в 2,8 (II) та 1,7 (III) рази порівняно з контрольним насінням (табл. 1). Відомо, що зниження активності ферменту може відбуватись у разі обробки рослин важкими металами [26, 30], сольового стресу [27, 31], інокуляції патогенами [25], при старінні клітин [22, 29] та ін. Спадання активності СОД може бути пов'язане зі зниженням пулу даного ферменту (посиленою його витратою на гасіння радикалів $O_2^{\cdot-}$), а також зі зниженням синтезу і підвищенням деградації його молекул. В інактивації та деградації СОД можуть брати участь АФК – гідроксильні радикали та пероксид водню [24]. Зокрема, H_2O_2 може відновлювати Cu^+ , який, взаємодіючи з новою молекулою пероксиду водню, утворює $Cu^{2+}OH^{\cdot}$ [1]. Цей зв'язаний *in situ* радикал OH^{\cdot} викликає окисну модифікацію амінокислотних послідовностей в активному центрі ферменту, що призводить до його інактивації [24].

Активність бензидин-пероксидази, що каталізує розкладання пероксиду водню, зокрема, утвореного СОД з $O_2^{\cdot-}$, за участю різних субстратів, у насінні ясеня достовірно знижувалась у 2,6 (II точка відбору проб) та 1,6 (III точка відбору проб) рази щодо контрольного насіння (табл. 1). З урахуванням літературних даних це можна пояснити тим, що у разі хронічної дії поллютантів на рослину в тканинах насіння ясеня звичайного починають діяти інші ферменти антиоксидантного захисту, які допомагають бензидин-пероксидазі розщеплювати пероксид [11].

Відомо, що пероксид водню є сигналом для активації захисних систем, активатором експресії генів, що призводить до стійкості рослин [11, 32]. Такі ферменти розщеплення пероксиду, як каталаза, можуть моделювати гомеостаз пероксиду і, відповідно, його сигнальну здатність. Каталаза каталізує розщеплення пероксиду водню до кисню та води, запобігаючи його токсичному ефекту, проте, на відміну від пероксидаз, вона не потребує відновленого субстрату для активності [11, 28]. Зниження активності каталази призводить до утворення реакційно агресивного ініціатора ПОЛ – гідроксильного радикала – і може бути діагностичною ознакою чутливості рослин до антропогенних навантажень [14]. В умовах дії комплексного антропогенного стресу активність каталази насіння *Fraxinus excelsior* L. збільшується щодо контрольних зразків в 1,3–1,1 рази відповідно II і III точкам відбору проб (див. таблицю).

Вплив аерополлютантів на активність СОД (ум. од./г тк.),
каталази (мккатал/г тк.) та пероксидази (ум. од./г тк.)
у насінні ясеня звичайного з різних районів м. Дніпропетровська

Ділянка	Активність СОД, М±m	P<0,05	Активність каталази, М±m	P<0,05	Активність пероксидази, М±m	P<0,05
I (К)	27,01±3,62	–	2,77±0,01	–	10,59±0,36	–
II	9,54±1,15	0,04	3,60±0,06	0,04	4,10±0,10	0,003
III	16,00±0,98	0,05	3,13±0,07	0,03	6,64±0,27	0,001

Таким чином, отримані результати свідчать, що досліджувані фізіолого-біохімічні показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги беруть участь у підтримці гомеостазу насіння ясеня звичайного з урбофітоценозу м. Дніпропетровська. Аерополлютанти справляють негативний вплив на репродуктивні органи *Fraxinus excelsior* L., свідченням чого є збільшення вмісту МДА. Показано, що в метаболічних процесах і реакціях, пов'язаних із захистом і стійкістю клітин насіння до дії поллютантів, беруть участь антиоксидантні ферменти: СОД, КАТ і ПО. Зареєстрований факт зниження активності СОД, ПО та збільшення КАТ вказує на активну роботу цих ензимів у знешкодженні активних форм кисню.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бараненко В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48. № 6. С. 465–474.
2. Бессонова В. П., Юсупова Т. И. Семенное возобновление древесных растений и промышленные поллютанты (SO₂ и NO₂). Запорожье: Запорожский гос. ун-т, 2001. 193 с.
3. Більчук В. С. Вплив техногенного забруднення на активність і компонентний склад амінотрансфераз репродуктивних органів деревних рослин // Сучасні проблеми фізіології та інтродукції рослин: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. (Дніпропетровськ, 2005). С. 6.
4. Воронин В. И. Действие серосодержащих эмиссий на пихту сибирскую в Южном Прибайкалье: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. Иркутск, 1989. 19 с.
5. Гарифзянов А. Р., Горелова С. В., Иванищев В. В. Физиологические реакции *Tilia Cordata* Miller. в условиях урбоэкосистемы // Развитие современной экологии [Електрон. ресурс]. Режим доступа: ecotext.ru/12.html
6. Грицай З. В., Денисенко О. Г. Насіннева продуктивність деревних рослин в умовах забруднення довкілля викидами металургійного підприємства // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Сер. біол. Екол. 2011. Вип. 19. Т. 2. С. 40–44.
7. Журавлева А. Н. Эколого-биологическое состояние и особенности размножения растений в условиях урбанизированной среды: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. Тольятти, 2012. 18 с.
8. Казначеева М. М. Дослідження стану прооксидантно-антиоксидантної системи часнику сорту «Дюшес» // Вісн. Запорізьк. ун-ту. 2010. № 1. С. 136–140.
9. Мерзляк М. Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Сорос. обзор. журн. 1999. № 9. С. 20–26.
10. Методы биохимического исследования растений / под ред. А. И. Ермакова, 3-е изд. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
11. Пацула О., Демків О. Каталаза та адаптація рослин соняшника до токсичної дії кадмію та свинцю // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2003. Вип. 34. С. 225–230.
12. Перслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лабораторное дело. 1989. № 11. С. 20–23.

13. Пleshков Б. П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1968. 183 с.
14. 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.
15. Приймак О. П. Вплив викидів автотранспорту на насінневу продуктивність декоративних квіткових рослин // Екологічні питання співіснування: людина – рослина: матеріали Всеукр. конф. (Дніпропетровськ, 2009). С. 154–159.
16. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин / М. М. Мусієнко, Т. В. Паршикова, П. С. Славний. К.: Фотосоціоцентр, 2001. 200 с.
17. Тянь К., Сунн С., Лэй И. Гибель клеток и метаболизм активных форм кислорода в зародышевых осях семян сои при ускоренном старении // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 1. С. 37–45.
18. Філонік І. О. Вплив техногенного забруднення Дніпропетровська на показники білково-амінокислотного обміну і системи протеолізу у насінні гіркого каштану звичайного та клену гостролистого // Рослини та урбанізація: матеріали I міжнар. наук.-практ. конф. (Дніпропетровськ, 2007). С. 159–160.
19. Хромих Н. О. Стан глутатіон-залежної системи *Aesculus hippocastanum* за умов антропогенного забруднення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 58. С. 265–270.
20. Шупранова Л. В. Наслідки впливу комплексного забруднення міського середовища на стан генеративного потомства деревних рослин // Екологічні питання співіснування: людина – рослина: матеріали Всеукр. конф. (Дніпропетровськ, 2009). С. 283–286.
21. Шупранова Л. В., Кучма В. М. Видові особливості змін деяких показників насіння деревних порід в умовах міського середовища // Інтродукція, селекція та захист рослин: матеріали III Міжнар. наук. конф. (Донецьк, 2012). С. 235.
22. Abarca D., Martin M., Sabater B. Differential leaf response in young and senescent plants // *Physiol. Plant.* 2001. Vol. 113. P. 409–415.
23. Bailly C., Benamar A., Corbineau F., Come D. Free radical scavenging as affected by accelerated ageing and subsequent priming in sunflower seeds // *Physiol. Plant.* 1998. Vol. 104. P. 646–652.
24. Casano L. M., Gomez L. D., Lascano H. R. et al. Inactivation and degradation of CuZn-SOD by active oxygen species in wheat chloroplasts exposed to photooxidative stress // *Plant Cell Physiol.* 1997. Vol. 38. P. 433–440.
25. Hernandez J., Rubio M., Olmos E. et al. Oxidative stress induced by long-term plum pox virus infection in peach (*Prunus persica*) // *Physiol. Plant.* 2004. Vol. 122. P. 489–495.
26. Mishra A., Choudhuri M. A. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice // *Biol. Plant.* 1999. Vol. 42. P. 409–415.
27. Muthukumarasamy M., Dutta Gupta S., Panneerselvam R. Enhancement of peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase activities by triadimefon in NaCl stressed *Raphanus sativus* L. // *Biol. Plant.* 2000. Vol. 43. P. 317–320.
28. Polidoros A. N., Scandalos J. S. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidant in the regulation of catalase and glutathione-S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.) // *Physiologia Plantarum.* 1999. Vol. 106. P. 112–120.
29. Sairam R. K., Singh D. K., Srivastava G. C. Changes in activity of activity of antioxidant enzymes in sunflower leaves of different ages // *Biol. Plant.* 2003. Vol. 47. P. 61–66.
30. Sandalio L., Dalurzo H., Gomez M. et al. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants // *J. Exp. Bot.* 2001. Vol. 52. P. 2115–2126.
31. Santos C., Campos A., Azevedo H., Caldeira G. In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism // *J. Exp. Bot.* 2001. Vol. 52. P. 351–360.

32. *Schutzendubel A., Polle A.* Plants responses to abiotic stress: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization // *J. Exp. Bot.* 2002. Vol. 53. N 372. P. 1351–1365.
33. *Sung J. M.* Lipid peroxidation and peroxide-scavenging in soybean seeds during ageing // *Physiol. Plant.* 1996. Vol. 97. P. 85–89.

Стаття: надійшла до редакції 22.11.12

доопрацьована 05.02.13

прийнята до друку 07.02.13

PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE OF THE *FRAXINUS EXCELSIOR* SEEDS IN THE CONDITIONS OF URBAN ENVIRONMENT

A. Rossihina-Galicha

*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Research Institute of Biology
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

The accumulation of TBA-active products as well as levels of superoxide dismutase (КФ 1.15.1.1), catalase (КФ 1.11.1.6) and peroxidase (КФ 1.11.1.6) activity was defined in the European ash seeds from the Dnepropetrovsk urban-phytocenosis. The increase of the lipoperoxidation products content and catalase activity in 1,1-1,3 times as well as the decrease in SOD activity and peroxidase in 2–3 times in the urban-phytocenosis seeds relatively the conditional control is ascertained. It is concluded that activation of peroxidation processes and activity of superoxide dismutase in the seeds is the adaptive response of plant organism to environmental conditions of anthropogenic pollution of urbophytocenoses.

Keywords: *Fraxinus excelsior* L., aeropollutants, superoxide dismutase (SOD), catalase, peroxidase, TBA-active products.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ РАВНОВЕСИЕ СЕМЯН *FRAXINUS EXCELSIOR* L. В УСЛОВИЯХ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ

A. Россихина-Галычая

*Днепропетровский национальный университет
имени Олеса Гончара, НИИ биологии
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск, 49010, Украина
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

В семенах ясеня обыкновенного (*Fraxinus excelsior* L.) из урбофитоценоза г. Днепропетровска определяли накопление ТБК-активных продуктов и уровни активности супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1), каталазы (КФ 1.11.1.6) и пероксидазы (КФ 1.11.1.7). Установлено увеличение содержания продуктов липопероксидации и активности каталазы в 1,1–1,3 раза, а также снижение активности СОД и пероксидазы в 2–3 раза в семенах городского фитоценоза относительно условного контроля. Сделан вывод, что активация процессов пероксидации и активности супероксиддисмутазы в семенах ясеня обыкновенного является приспособительной реакцией растительного организма к экологическим условиям антропогенно загрязненных урбофитоценозов.

Ключевые слова: *Fraxinus excelsior* L., аэрополлютанты, супероксиддисмутазы (СОД), каталаза, пероксидаза, ТБК-активные продукты.