

ВПЛИВ *RHYTISMA ACERINUM* НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ НАСІННЯ КЛЕНІВ В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОГО МІСТА

В. Ловинська¹, Г. Россихіна²

¹Дніпропетровський державний аграрний університет
вул. ім. Ворошилова, 25, Дніпропетровськ 49600, Україна
e-mail: glub@ukr.net

²Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара, НДІ біології
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru

Досліджували вплив *Rhytisma acerinum* на вміст ТБК-активних продуктів і активність антиоксидантних ферментів насіння *Acer platanoides* L. в умовах хронічного промислового стресу. Виявлено підвищення вмісту МДА та рівня активності ензимів антиоксидантної системи за дії моно- і комбінованого стресів. Найбільш суттєві відхилення показників активності ферментів від значення контролю спостерігались у варіанті комбінування фітопатогену з антропогенним фактором.

Ключові слова: *Acer platanoides* L., *Rhytisma acerinum*, продукти пероксидного окиснення ліпідів, ферменти антиоксидантного захисту.

Збереження природної рослинності й озеленення населених пунктів декоративними та стійкими видами рослин на сьогоднішній день є одним із засобів оптимізації навколишнього середовища у промислових регіонах.

В умовах сучасного міста рослини, які вже зазнали дії техногенного преса, стають більш уразливими та значно легше піддаються впливові чинників біотичного походження – збудників хвороб і шкідників. Сигналом для запуску комплексу стресових реакцій рослинного організму повинна слугувати певна стереотипна й біологічно важлива зміна внутрішнього середовища клітини, яка відбувається під впливом будь-якого фактора. Цим вимогам відповідає зміна рівня пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в біологічних мембранах [7].

Як відомо, при озелененні населених міст серед цінних деревних порід на особливу увагу заслуговує клен, багате видове та формове різноманіття якого дає можливість задовольнити значну кількість запитів зеленого будівництва. Однак останнім часом рослини з роду *Acer* L. значно потерпають від ураження грибними патогенами, що призводить до втрати декоративності, скорочення життєвого періоду, а часто й до загибелі рослинних організмів. Серед великої кількості фітопатогенної флори на особливу увагу заслуговує сумчастий гриб *Rhytisma acerinum* (Pers.) Fr., що викликає появу на листках рослин непривабливих чорних плям неправильної форми.

Для діагностики стану зелених насаджень і успішної боротьби з хворобами інфекційного походження необхідним є встановлення норми реакції рослин на збудник за рахунок фізіологічних процесів, які відбуваються в уражених і здорових рослин.

Впливові абіотичних і антропогенних чинників на прооксидантно-антиоксидантні реакції рослин присвячено багато досліджень [3, 4], однак кількість праць із вивчення змін даної системи за дії чинників біотичної природи є досить обмеженою [6, 12].

Метою даного дослідження було вивчення впливу *Rhytisma acerinum* (Pers.) Fr. на вміст ТБК-активних продуктів і активність ферментів антиоксидантної дії у насінні *Acer platanoides* L. в умовах промислового міста.

Матеріали та методи

Як тест-об'єкт нами був обраний один із найбільш поширених на території України видів клена (*Acer* L.) – клен гостролистий (*Acer platanoides* L.), рослини віком 30–40 років. Для визначення окремих морфологічних показників з дорослих рослин клена збирали насіння в умовно чистій зоні – смт Петриківці (контроль) та на території промислово забрудненого м. Дніпродзержинськ (промислове забруднення – ПЗ) зі здорових рослин, а також тих, що підлягали ураженню збудником чорної плямистості кленів – *Rhytisma acerinum* (Pers.) Fr. (відповідно фітопатоген – ФП та ПЗ+ФП). Відбір насіннєвого матеріалу проводили в середині жовтня 2010 р. на стадії появи на поверхні листя рослин клена склероціальних стром гриба *Rhytisma acerinum*. Фітопатологічну експертизу проводили з використанням визначників [5, 13].

Інтенсивність ПОЛ визначали за вмістом ТБК-активних речовин згідно з методом [9], що заснований на встановленні концентрації забарвленого комплексу, який утворюється в результаті реакції МДА з двома молекулами ТБК у кислому середовищі при температурі 99–100°C. Ферментативну активність супероксиддисмутази СОД (КФ 1.15.1.11) оцінювали за рівнем гальмування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразоліа у присутності нікотинамідаденіндинуклеотиду та феназинметасульфату [10]. Активність бензидин-пероксидази (КФ 1.11.1.7) визначали за швидкістю реакції окиснення бензидину до утворення продукту окиснення синього кольору згідно з Бояркіним [8], а каталази – за кількістю розкладеного перекису водню під дією ферментного препарату шляхом титрування перманганатом калію [11].

Дослідження проводили у трикратній біологічній і аналітичній повторюваностях із величиною вибірки у кожному із варіантів – 30 двокрилаток клена гостролистого. Результати опрацьовано статистично за допомогою пакету *Statistica 6.0*; розбіжності між вибірками вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Дослідження фізіолого-біохімічних показників рослин *A. platanoides* L., що зазнали індивідуальної дії збудника чорної плямистості клена (*Rhytisma acerinum*), а також впливу фітопатогену на тлі техногенного забруднення показали значні відмінності прооксидантно-антиоксидантних параметрів у насінні рослин.

Для вивчення рівня перекисного окиснення ліпідів було визначено вміст ТБК-активних продуктів. Малоновий діальдегід утворюється при деградації поліненасичених жирних кислот активними формами кисню та слугує маркером переокиснення жирів і оксидативного стресу.

Як видно з даних, наведених на рис. 1, зовнішні стресори, індукуючи інтенсивність перекисного окиснення ліпідів, призводять до збільшення, порівняно з контрольним зразком, кількісного вмісту ТБК-активних продуктів у насінні рослин клена. Однак у рослин дослідних варіантів спостерігаються відмінності за амплітудою вмісту МДА залежно від виду стресового фактора. Інтенсивність ліпопероксидації у рослин, що зазнали комплексного впливу антропогенного та біотичного чинників, є максимальною (зростання на 40% порівняно з контролем), тоді як у варіантах поодинокого впливу фітопатогенного й техногенного факторів рівень МДА досить низький і наближається до контрольних значень.

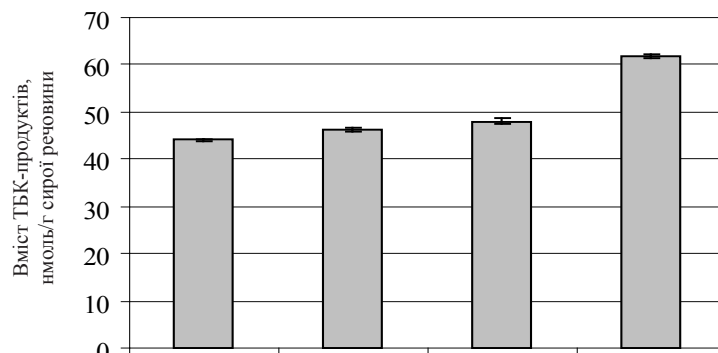


Рис. 1. Вміст МДА в насінні *Acer platanoides* L. за різних умов існування, нмоль/г маси сирової речовини: смт Петриківка: 1 – контроль, 2 – ФП; м. Дніпродзержинськ: 3 – ПЗ, 4 – ПЗ+ФП.

Отже, обраний метод адекватно відображає перебіг процесу ПОЛ і засвідчує його інтенсифікацію за умов біотичного та хронічного антропогенного стресу.

Інтенсифікація процесів ПОЛ, викликана стресовими чинниками різної природи, призводить до запуску неспецифічних механізмів захисту клітин, а це, передусім, супроводжується змінами активності ферментів антиоксидантної системи, зокрема супероксиддисмутази.

Основні результати визначення супероксиддисмутази активності в репродуктивних органах клена представлені на рис. 2. Слід відзначити, що активність ензиму за дії стресорів мала стабільно підвищений рівень. Максимальний показник ферментативної активності спостерігався у разі впливу чинника біотичної природи на тлі техногенного забруднення (м. Дніпродзержинськ) і становив 42,89 ум. од./г маси сирової речовини, що в 3,5 разу перевищувало рівень контролю. Дещо нижчий рівень досліджуваного параметра мали рослини, які підлягали поодинокому впливу біотичного й антропогенного стресорів – у цих варіантах активність ферменту зростала на 75% (ФП) та на 28% (ПЗ) порівняно з контролем.

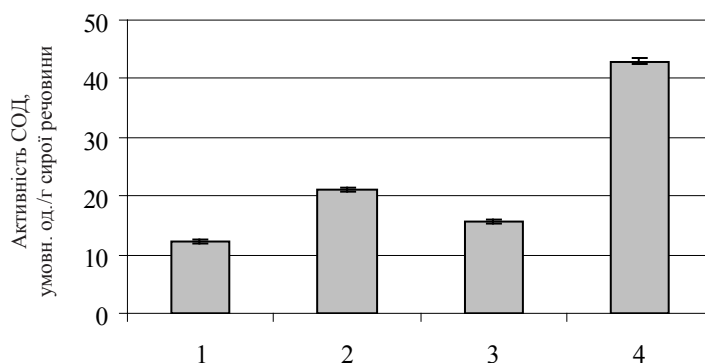


Рис. 2. Активність СОД насіння *Acer platanoides* L. різних умов існування відн.од./г сирової речовини: смт Петриківка: 1 – контроль, 2 – ФП; м. Дніпродзержинськ: 3 – ПЗ, 4 – ПЗ+ФП.

Одним із важливих ферментів антиоксидантного захисту є каталаза, що каталізує реакцію перетворення пероксиду водню на воду та кисень і зниження активності якого призводить до утворення реакційно агресивного ініціатора ПОЛ – гідроксильного радикала.

Проведені дослідження по даному ферменту в насінні *A. platanoides* L. дали змогу встановити низький рівень його активності у варіанті впливу біотичного чинника в умовно чистій зоні (рис. 3), що відповідали значенню контролю.

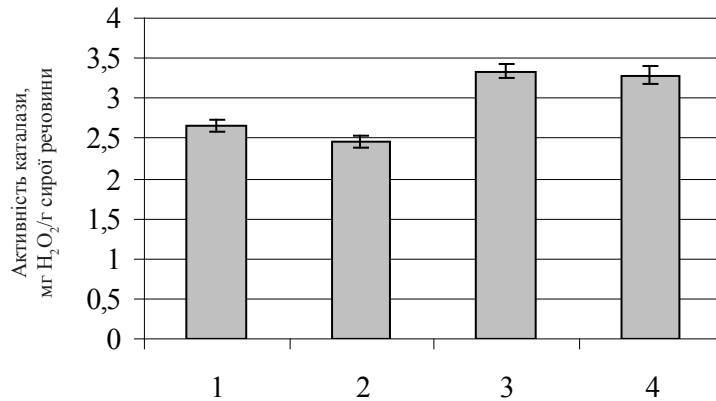


Рис. 3. Активність каталази насіння *Acer platanoides* L. різних умов існування, мг H₂O₂/г маси сирової речовини: смт Петриківка: 1 – контроль, 2 – ФП; м. Дніпродзержинськ: 3 – ПЗ, 4 – ПЗ+ФП.

Як видно із даних (див. рис. 3), активність каталази насіння рослин клена у варіанті з промислово забрудненою територією підвищується на 26%, а за сумісного впливу біотичного й антропогенного чинників – на 24%, залишаючись на рівні значення варіанта ПЗ.

Цей факт, імовірно, пов'язаний із відсутністю значного впливу біотичної компоненти на окисно-відновні процеси, які характерні для рослин, що зазнали дії промислових емісій і включення інших систем утилізації перексиду водню.

Клітинні механізми дезактивації різних активних форм кисню можуть замінювати, доповнювати й дублювати один одного [8]. Припускається, що недостатня активність будь-якої з ланок антиоксидантного захисту може призвести до активації іншої ланки.

Окрім каталази, H₂O₂ дезактивується різноманітними пероксидазами. Пероксидаза будучи одним із маркерних ферментів, практично першою активується у відповідь на стрес, бере участь в окислювально-відновних реакціях фотосинтезу, у процесах дихання, метаболізмі білків і регулюванні процесів росту, бере участь у катаболізмі фенольних сполук тощо [1].

Основні результати визначання пероксидазної активності у насінні клена гостролистого за дії стресорів представлені на рис. 4. Рівень активності пероксидази змінювався залежно від фактора впливу на рослинний організм, а також від місця росту досліджуваних об'єктів.

Активність ферменту рослин з умовно чистої зони була на досить низькому рівні та лише на 10% перевищувала контроль, тоді як під впливом забруднення ензиматична активність була вищою, ніж у рослин контрольного варіанта, у 3,5 разу. Слід відзначити, що сумісний вплив обох стресових факторів (ПЗ+ФП) зумовлював максимальне зростання значень активності ферменту (в 4,2 разу порівняно з контролем). Можливо, явище зростання пероксидазної активності у насінні рослин клена має захисне значення, що спрямоване на запобігання утворенню надлишку активних форм кисню.

Таким чином, вплив *Rhytisma acerinum* на насіння рослин клена гостролистого виявився у посиленні процесів перекисного окиснення ліпідів і активності ферментів

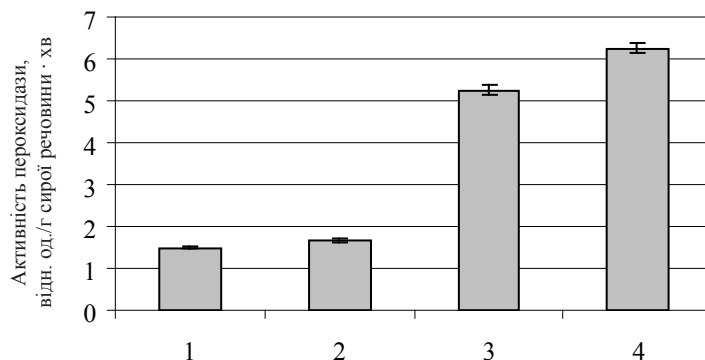


Рис. 4. Активність пероксидази насіння *Acer platanoides* L. різних умов існування, умов. од./г маси сирової речовини хв: смт Петриківка: 1 – контроль, 2 – ФП; м. Дніпродзержинськ: 3 – ПЗ, 4 – ПЗ+ФП.

антиоксидантного стресу. Ступінь варіабельності досліджуваних показників прооксидантно-антиоксидантної системи залежав від природи стресового чинника та досягав максимальних своїх значень у варіанті ПЗ+ФП, що характеризує підсилювальний фітотоксичний ефект взаємодії збудника чорної плямистості і ксенобіотиків на рослини клена.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева В. А. Фермент пероксидаза. М.: Наука, 1988. 130 с.
2. Антонечко С. П., Комаристая В. П. Активность каталазы у микроводоросли *Dunaliella salina* Teod. при индукции каротиногенеза дефицитом азота и фосфора // Вісн. Харків. аграрн. ун-ту. Сер. біол. 2010. Вип. 3 (21). С. 63–69.
3. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. К.: Чернобыль-интеринформ, 1997. 420 с.
4. Воробець Н. М. Peroxidazna активність коренів соняшника за дії іонів свинцю та селену // Наук. записки Тернопіль. держ. пед. ун-ту. Сер. біол. 2002. № 3 (18). С. 148–153.
5. Журавлев И. И., Селиванова Т. Н., Черемисинов Н. А. Определитель грибных болезней деревьев и кустарников. М.: Лесн. пром-сть, 1979. 248 с.
6. Карпець Ю. В., Черкіс Т. М. Динаміка активності фенолпероксидази в здорових та уражених фузаріозом сіянцях сосни // Лісівництво і агролісомеліорація. Харків: УкрНДЦЛГА, 2008. Вип. 112. С. 241–248.
7. Колупаєв Ю. Є. Стресові реакції рослин. Харків, 2001. 173 с.
8. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. 3-е изд. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
9. Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 200 с.
10. Переслєгіна І. А. Активність антиоксидантних ферментів слюни здорових дітей // Лабораторное дело. 1989. № 11. С. 20–23.
11. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1968. 183 с.
12. Полякова Л. В. Сезонная изменчивость фенольных соединений в листьях деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur*) и красного (*Quercus rubra*), устойчивых и восприимчивых к мучнистой росе (*Microsphaera alphitoides*) // Лісівництво і агролісомеліорація. Харків: УкрНДЦЛГА, 2008. Вип. 113. С. 252–259.

13. Циліорик А. В., Шевченко С. В. Грибы лесных биоценозов: Атлас. К.: Вища шк. Головное изд-во, 1989. 255 с.

Стаття: надійшла до редакції 06.10.11

прийнята до друку 30.11.11

PROOXYDANT-ANTIOXYDANT'S SYSTEM OF ACER L. TO *RHYTISMA ACERINUM* IN CONDITIONS OF INDUSTRIAL CITY

V. Lovinska¹, A. Rossikhina²

¹*Dnipropetrovsk State Agrarian University
25, Voroshylov St., Dnipropetrovsk 49600, Ukraine
e-mail: glub@ukr.net*

²*Scientific-Research Institute of Biology of the Oles Honchar
National University of Dnipropetrovsk
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

Influence of *Rhytisma acerinum* in the conditions of industrial city on the level of TBA-active products and activity of antioxidant enzymes in seeds *Acer platanoides* L. have been studied. Increased content MDA and the level activity of enzymatic complex of antioxidant system for the actions of mono- and combined stresses was determined. This results showed the most significant deviations of index enzymes activity in the case combination of phytopathogen with anthropogenic factor.

Keywords: *Acer platanoides* L., *Rhytisma acerinum*, oxidated lipid peroxidation products, antioxidant enzymes.

ВЛИЯНИЕ *RHYTISMA ACERINUM* НА ПРООКСИДАНТНО- АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ СЕМЯН КЛЕНОВ В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО ГОРОДА

В. Ловинская¹, А. Россихина²

¹*Днепропетровский государственный аграрный университет
ул. им. Ворошилова, 25, Днепропетровск 49600, Украина
e-mail: glub@ukr.net*

²*Днепропетровский национальный университет
имени Олеса Гончара, НИИ биологии
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

Исследовали влияние *Rhytisma acerinum* на содержание ТБК-активных продуктов и активность антиоксидантных ферментов семян *Acer platanoides* L. в условиях хронического промышленного стресса. Выявлено повышение содержания МДА и уровня активности энзимов антиоксидантной системы при действии моно- и комбинированного стрессов. Наиболее существенные отклонения показателей активности ферментов от значения контроля наблюдались в варианте комбинирования фитопатогена с антропогенным фактором.

Ключевые слова: *Acer platanoides* L., *Rhytisma acerinum*, продукты пероксидного окисления липидов, ферменты антиоксидантной защиты.