

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ-ДЕТОКСИКАТОРІВ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ГАЗОНОУТВОРЮЮЧИХ ТРАВ ЗА КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ ТОКСИКАНТІВ

Г. Россихіна¹, Ю. Лихолат², Л. Кирпита²

¹Науково-дослідний інститут біології Дніпропетровського
національного університету імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru

²Кафедра фізіології та інтродукції рослин Дніпропетровського
національного університету імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна

Досліджено реакцію ключових антиоксидантних ферментів *Elytrigia repens* (L.) Nevski та *Avena fatua* L. на комплексний вплив промислових емісій шахтного розрізу Морозівка смт Пантаївка. Встановлено, що дані рослинні об'єкти протягом онтогенезу пристосовуються до хронічного антропогенного стресу (який проявляється в інтенсифікації процесів пероксидного окиснення) за рахунок узгодженої роботи ферментів-детоксикаторів активних форм кисню – супероксиддисмутази, каталази та пероксидази.

Ключові слова: *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Avena fatua* L., антропогенний стрес, супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза, малоновий діальдегід.

Тенденцією останніх десятиліть стало катастрофічне зростання рівня антропогенного навантаження на біосферу, внаслідок неконтрольованості викидів промислових емісій металургійних і вугільно-видобувних підприємств. Це викликає потребу дослідження механізмів адаптації рослинних організмів, особливо трав'янистих дерноутворюючих видів, до дії комплексу поллютантів, оскільки вони є невід'ємним елементом флори кожного підприємства [10, 11]. Негативні чинники довкілля здатні прискорювати процеси пероксидного окиснення ліпідів, що спричиняє підвищення рівня вільнорадикального окиснення. При цьому однією з основних неспецифічних реакцій-відповідей живих організмів є зміна активності антиоксидантних ферментів, мінливість яких пов'язана з процесами захисту клітин від некерованого утворення вільних радикалів [2, 4–6, 8, 16]. За стресових умов у рослинних тканин значно підвищується вміст активних форм кисню (АФК) з різною реакційною здатністю: супероксидний аніон радикал (руйнується супероксиддисмутазою (СОД), пероксид водню (знешкоджується каталазою та пероксидазою) та інших агресивних продуктів, які порушують рослинний гомеостаз і можуть привести до незворотних пошкоджень [2, 4–6, 16]. Багато досліджень присвячено вивченню змін активності саме цих ферментів-антиоксидантів за впливу антропогенних [3, 7, 15] та абіотичних [1, 9, 15] факторів. Стан антиоксидантних ферментів здатний характеризувати стійкість рослин до несприятливих чинників довкілля і можливість використання конкретних видів в озелененні шахтних відвалів і промислових територій [8, 18]. У зв'язку з цим метою нашого дослідження є визначення фізіологічного стану трав'янистих рослин пирію повзучого та вівсюгу звичайного на фоні хронічного забруднення території шахтного розрізу смт Пантаївка м. Олександрії.

Матеріали і методи

Тест-об'єктом були найбільш розповсюджені в умовах степу представники газоноутворюючих трав родини злакових – пирій повзучий (*Elytrigia repens* (L.) Nevski) та вівсюг звичайний (*Avena fatua* L.). Відбір рослинного матеріалу проводили на стадіях відростання, виходу в трубку, початку колосіння, дозрівання насіння з території:

1. Розрізу Морозівка смт Пантаївка м. Олександрія;
2. Садибної ділянки м. Олександрія;
3. Ботанічного саду Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара (умовний контроль).

Гончара (умовний контроль).

Активність супероксиддисмутази оцінювали за рівнем гальмування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію у присутності NADH і феназинметасульфату згідно з [14]. Активність бензидин-пероксидази визначали за швидкістю реакції окиснення бензидину до утворення продукту окиснення синього кольору згідно з [12]. Активність каталази визначали за кількістю розкладеного перекису водню під дією ферментного препарату шляхом титрування перманганатом калію [14]. Вміст малонового діальдегіду (МДА) оцінювали методом, в основі якого лежить реакція між МДА і тіобарбітуровою кислотою згідно з [13]. Повторюваність кожного дослідження – трикратна. Результати опрацьовано статистично за допомогою пакету Statistica 6.0; розбіжності між вибірками вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Результати визначення вмісту ТБК-активних продуктів показали, що за комплексного хронічного стресу в пирію повзучого з розрізу Морозівка рівень вмісту малонового діальдегіду достовірно збільшувався на 35% у фазу відростання. На етапах виходу в трубку та початку колосіння відзначали деяке збільшення цього показника щодо контролю на 40 та 42%. У подальшому (фаза дозрівання насіння) рівень ТБК-активних продуктів трохи знижувався, але перевищував контроль на 20% (рис. 1). Вміст малонового діальдегіду в надземній частині вівсюгу звичайного, згідно з отриманими експериментальними даними, також був достовірно вищим у рослин на розрізі Морозівка смт Пантаївка м. Олександрія на 30% (фаза відростання), на 45% (фаза виходу в трубку), на 68% (фаза початок колосіння) та на 40% (фаза дозрівання насіння). При цьому цей показник рослин зі садибної ділянки м. Олександрія не мав різниці з контролем (рис. 1).

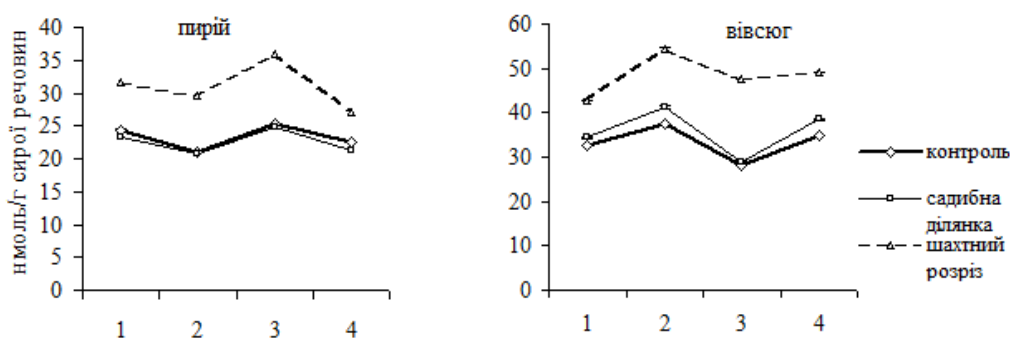


Рис. 1. Вміст малонового діальдегіду в надземній частині газоноутворюючих трав за дії техногенного впливу. Тут і на рис. 2–4 фази росту: 1 – відростання; 2 – виходу в трубку; 3 – початок колосіння; 4 – дозрівання насіння.

У надземній масі пирію повзучого, що зріс на шахтному розрізі Морозівка та садибній ділянці, активність супероксиддисмутази змінювалася залежно від етапу онтогенезу рослини

(рис. 2). Так, у фазі відростання в досліді, порівняно з контролем, виявлено достовірне збільшення ферментативної активності за дії комплексних промислових емісій на 35%. У фазі виходу в трубку активність ензиму збільшувалася на 55% (розріз) і 20% (садибна ділянка), а на початку колосіння – на 40 і 20% відповідно. На етапі дозрівання насіння активність СОД перевищувала контрольний варіант на 55% (шахтний розріз). У зеленій масі рослин на садибній ділянці досліджуваній показник перевищував контроль на 10%.

Для рослин вівсюгу звичайного реєстрували подібну тенденцію, проте активність супероксиддисмутази була трохи вищою. У фазі відростання ферментативна активність достовірно перевищувала контроль на 20% у рослин зі садибної ділянки та на 60% у рослин з розрізу Морозівка. Фаза виходу в трубку характеризувалася підвищенням активності СОД на 25 і 50% відповідно. Контрольний рівень активності на початку колосіння достовірно збільшувався на 30% за умов росту рослин на садибній ділянці та на 69% – на шахтному розрізі. На етапі дозрівання насіння вплив антропогенного навантаження промислового міста на активність СОД проявлявся у підвищенні активності на 60% (рис. 2).

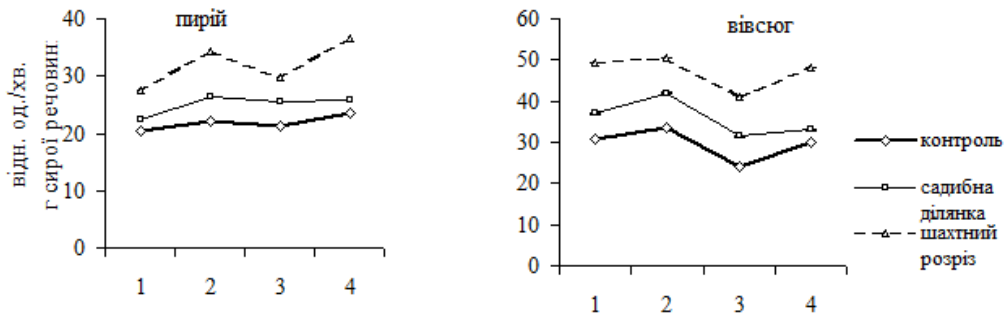


Рис. 2. Активність супероксиддисмутази в надземній частині газоутворюючих трав за дії техногенного впливу.

Подібні зміни відзначено при вимірюванні каталазної активності. У рослин пирію повзучого та вівсюгу звичайного з розрізу Морозівка на етапі відростання рівень ферментативної активності перевищував контроль на 25 і 35% відповідно, а на садибній ділянці – на 20 та 10%. У подальшому, на етапі виходу в трубку, цей показник зростав на 55 і 40% у надземній частині пирію та вівсюгу за хронічної комплексної дії поллютантів шахтного розрізу. За умов садибної ділянки ферментативна активність перевищувала контрольну лише на 10 і 20% відповідно. У фазах початку колосіння – дозрівання насіння реєстрували достовірне зростання каталазної активності на 45–55% у пирію та на 43–50% у вівсюгу, що росли на розрізі смт Пантаївка (рис. 3).

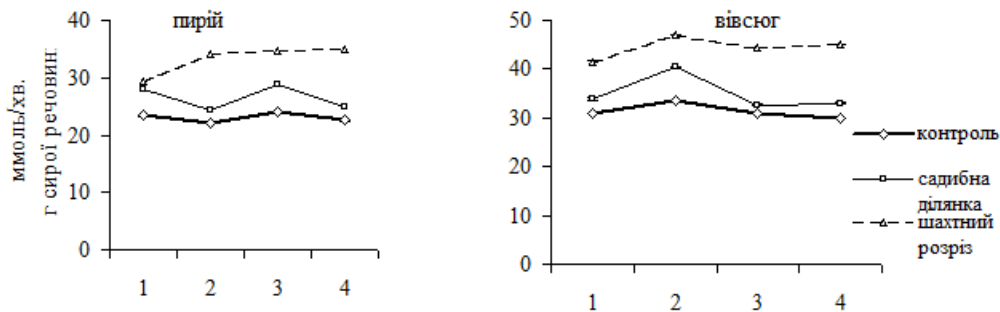


Рис. 3. Активність каталази в надземній частині газоутворюючих трав за дії техногенного впливу.

Вивчення реакції дослідних рослин за умов росту на шахтному розрізі Морозівка та на садибній ділянці м. Олександрії показало, що зареєстрована нами стимуляція супероксиддисмутазної та каталазної активності супроводжувалася збільшенням активності ще одного антиоксидантного ферменту – пероксидази. У фазі відростання пероксидазна активність пирію повзучого перевищувала контрольні показники на 25% (розріз) та 20% (садибна ділянка). У наступних етапах (вихід у трубку – початок колосіння – дозрівання насіння) цей показник у рослин зі садибної ділянки коливався від 10 до 20% вище за контроль, тоді як зі шахтного розрізу – від 45 до 55% (рис. 4).

Подібні зміни пероксидазної активності за дії комплексу антропогенних стресорів були у рослин вівсюгу звичайного. На рис. 4 показано, що в зеленій надземній частині на стадії відростання активність ензиму перевищувала контрольне значення на 10 (садибна ділянка) – 30% (розріз Морозівка). Вихід у трубку характеризувався достовірним збільшенням рівня пероксидази на 20 і 40%. У фазі колосіння досліджуваний показник рослин із розрізу достовірно перевищував контроль на 43%. На стадії дозрівання насіння спостерігалось подальше підвищення пероксидазної активності до 50%.

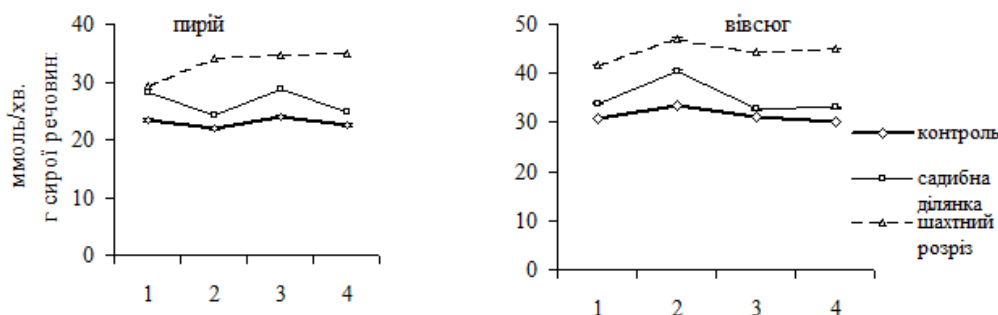


Рис. 4. Активність пероксидази в надземній частині газоноутворюючих трав за дії техногенного впливу.

Таким чином, дослідження активності ферментів-детоксикаторів АФК у пирію повзучого та вівсюгу звичайного в процесі онтогенезу показало, що на шахтному розрізі Морозівка рослини перебувають в умовах тривалого хронічного стресу, про що свідчить рівень окисно-відновних процесів у тканинах надземної частини (інтенсифікація процесів ПОЛ). Адаптація досліджуваних рослин до комплексного техногенного забруднення відбувається за рахунок активації супероксиддисмутази, каталази та пероксидази.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бараненко В. В. Активність супероксиддисмутази в рослинах гороху за кліностакування // Наук. записки Тернопіль. пед. ун-ту. Сер. біол. 2002. № 1 (16). С. 38–42.
2. Бараненко В. В. Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів в рослинах гороху при кліноставанні // Укр. ботан. журн. 2002. Т. 59. № 2. С. 212–217.
3. Воробець Н. М. Пероксидазна активність коренів соняшника за дії іонів свинцю та селену // Наук. записки Тернопіль. пед. ун-ту. Сер. біол. 2002. № 3 (18). С. 148–153.
4. Ершова А. Н., Хрипач В. А. Влияние эпибрассинолида на процессы перекисного окисления липидов *Pisum sativum* в нормальных условиях и при кислородном стрессе // Физиология растений. 1996. Т. 43. № 6. С. 870–873.
5. Закржевский Д. А., Балахнина Т. И., Степневский В. и др. Окислительные и ростовые процессы в корнях и листьях высших растений при различной доступности кислорода в почве // Физиология растений. 1995. Т. 42. № 2. С. 272–280.

6. Колупаєв Ю. Є. Стресові реакції рослин. Харків: Харк. держ. аграрн. ун-т, 2001. 173 с.
7. Колупаєв Ю. Є., Капець Ю. В. Активність супероксиддисмутази і каталази у колеоптилях пшениці за дії пероксиду водню і нагрівання // Фізіологія та біохімія культ. рослин. 2007. Т. 39. № 4. С. 319–325.
8. Коцюбинська Н. П., Левенець Т. Р., Зверковський В. М. Адаптивна мінливість *Robinia pseudoacacia* у штучних насадженнях Західного Донбасу // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Сер. Біологія. Екологія. 2001. Вип. 9. Т. 2. С. 123–128.
9. Куриленко І. М., Паладіна Т. О. Вплив сольового стресу і синтетичних регуляторів росту на активність каталази та пероксидази у проростках кукурудзи // Укр. біохім. журн. 2005. Т. 77. № 6. С. 86–93.
10. Лихолат Ю. В. Злакові трави як індикатори рівня забруднення довкілля агрохімічними підприємствами // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2004. Вип. 14. С. 58–61.
11. Лихолат Ю. В., Мицик Л. П., Тарасов В. В. Стійкість трав'янистих рослин до промислових емісій // Питання степового лісознавства та лісової рекультивациі земель. Дніпропетровськ: Вид-во Дніпропетровськ. ун-ту, 2001. Вип. 5. С. 51–55.
12. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И. Ермакова, 3-е изд. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
13. Мусієнко М. М., Паришков Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фотосоціоцентр, 2001. 200 с.
14. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1968. 183 с.
15. Россихіна Г. С., Вінниченко О. М. Система антиоксидантного захисту коріння кукурудзи в разі адаптації до комбінованої дії гербіцидів та ґрунтової посухи // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Сер. Біологія. Екологія. 2005. № 2. С. 164–168.
16. Таран Н. Ю., Оканенко О. А., Бацманова Л. М. Вторинний оксидний стрес як елемент загальної адаптивної відповіді рослин на дію несприятливих факторів довкілля [та ін.] // Физиология и биохимия культ. растений. 2004. Т. 36. № 1. С. 3–14.
17. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лабораторное дело. 1985. № 11. С. 678–681.

Стаття: надійшла до редакції 28.02.11

доопрацьована 01.04.11

прийнята до друку 06.04.11

**ACTIVITY OF ENZYMES - DETOXYCATORS OF ACTIVE OXYGEN SPECIES OF
LAWN FORMING GRASSES AT COMPLEX TOXIC ACTION****A. Rossihina¹, Yu. Lykholat², L. Kirpita²**

¹*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*

²*Department of Plants Physiologys and Introduction of the Oles Honchar
National University of Dnipropetrovsk
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine*

Reaction of key antioxidant enzymes of *Elytrigia repens* (L.) Nevski and *Avena fatua* L. on complex influence of industrial issues of mine section Morozivca, Pantaivca town is investigated. It has been founded that these vegetative objects on an ontogenesis extent had adapted to chronic anthropogenic stress as oxidations peroxyde processes intensification by complex works of enzymes – detoxycators of active oxygen species – *superoxyddismutase*, *catalase*, and *peroxydase*.

Key words: *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Avena fatua* L., anthropogenic stress, superoxyddismutase, catalase, peroxydase, malone dialdehyde.

**АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ-ДЕТОКСИКАТОРОВ АКТИВНЫХ ФОРМ
КИСЛОРОДА ГАЗОНООБРАЗУЮЩИХ ТРАВ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ
ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИКАНТОВ****А. Россихина¹, Ю. Лихолат², Л. Кирпита²**

¹*Научно-исследовательский институт биологии Днепропетровского
национального университета им. Олесея Гончара
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина*

²*Кафедра физиологии и интродукции растений Днепропетровского
национального университета им. Олесея Гончара
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина*

Исследована реакция ключевых антиоксидантных ферментов *Elytrigia repens* (L.) Nevski та *Avena fatua* L. на комплексное влияние промышленных эмиссий шахтного разреза Морозовка пгт Пантаивка. Установлено, что данные растительные объекты на протяжении онтогенеза приспосабливаются к хроническому антропогенному стрессу (который проявляется в интенсификации процессов пероксидного окисления) за счет согласованной работы ферментов-детоксикаторов активных форм кислорода – супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы.

Ключевые слова: *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Avena fatua* L., антропогенный стресс, супероксиддисмутазы, каталаза, пероксидаза, малоновый диальдегид.