## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

## ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ ОКСИДАЗ У ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЫ\*

Е.В. Сарбаева, О.Л. Воскресенская

Биолого-химический факультет Марийский государственный университет ул. Осипенко, 60, Йошкар-Ола, Россия, 424002

В условиях городской среды изучалась активность железосодержащих оксидаз в листьях однолетних декоративных растений. В заключении даны рекомендации по подбору ассортимента выращивания декоративных растений в разных районах города Йошкар-Олы.

Значительные темпы развития производства, увеличение количества автотранспорта и все возрастающие масштабы воздействия человека на окружающую природную среду в последние десятилетия приводят к значительному загрязнению атмосферного воздуха. Высокая урбанизация усугубляет данный процесс, в связи с чем в городах возникают самые неблагоприятные условия для жизни человека. Для улучшения санитарно-гигиенических условий на территориях предприятий и в селитебных зонах необходимо использовать различные виды растений для создания эффективных «зеленых фильтров».

Высокой декоративностью и разнообразием обладают различные виды однолетних цветущих растений, применяемые при оформлении клумб, рабаток, миксбордеров. Эти растения широко используются в озеленении городских улиц, в санитарно-защитных зонах и на территориях предприятий. Однако неблагоприятные условия окружающей среды зачастую оказывают на них негативное влияние, так как поглощение соединений, чуждых метаболизму, приводит к разнообразным нарушениям жизненных процессов, что, в свою очередь, может привести как к ухудшению декоративных свойств, так и к гибели растений. В связи с этим представляло интерес оценить, какие виды декоративных растений более устойчивы к неблагоприятным условиям произрастания и какие из них целесообразнее

<sup>\*</sup> Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 07-04-96619 «Эколого-физиологические адаптации растений в условиях городской среды» и НИР по тематическому плану Федерального агентства по образованию «Исследования функциональных особенностей биосистем в изменяющейся среде».

использовать для улучшения эстетических и санитарно-гигиенических характеристик урбанизированных территорий.

Наиболее часто при изучении устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды учитывается активность антиоксидантных ферментов. Поддержание равновесия окислительно-восстановительных процессов в клетках при действии газов, особенно кислотогенных, имеет особое значение, так как последние вызывают сдвиг межклеточной и внутриклеточной среды в кислую сторону. Поскольку оптимумы действия большинства гидролитических ферментов находятся в кислой зоне, падение рН клеточной среды способствует их активации, что в дальнейшем может привести к усилению окислительных процессов в клетках. При негативных воздействиях в клетках растений усиливается образование активных форм кислорода, что в итоге может привести к окислительному стрессу. В последние годы образование и быструю диффузию через мембраны перекиси водорода рассматривают как проявление сигнальной функции, а именно как вторичный мессенджер при трансдукции стрессорного сигнала, включающего индукцию синтеза ферментов-антиоксидантов [6; 11].

Целью нашей работы являлось исследование активности антиоксидантных ферментов каталазы и пероксидазы в тканях некоторых однолетних декоративных растений в условиях урбанизированной среды.

Объектами исследования служили цветущие, находящиеся в средневозрастном генеративном состоянии, наиболее распространенные в посадках г. Йошкар-Олы однолетние растения: бархатцы прямостоячие (Tagetes erecta L.), бархатцы отклоненные (Tagetes patula L.), лаватера трехмесячная (Lavatera trimestris L.), астра китайская (Callistephus chinensis L.), сальвия блестящая (Salvia splendens Ker. Gawl.) и петуния гибридная (Petunia hybrida Hort.). Растения были выращены в различных по степени антропогенной нагрузки районах города Йошкар-Олы. Районы исследований были выделены по результатам химических анализов атмосферного воздуха и на основе этих данных вычисленных комплексных индексов загрязнения атмосферы (КИЗА) [12].

Условно чистый, контрольный район исследования — участок на юго-востоке города Йошкар-Олы (ООПТ «Сосновая роща» и СТ «Энергетик»), КИЗА в данном районе не превышал 1,7.

Район с низким уровнем загрязнения — селитебная зона по ул. Осипенко; KU3A = 2,6.

Район со средним уровнем загрязнения — промышленная зона г. Йошкар-Олы вблизи ОКТБ «Кристалл», КИЗА = 6,2.

Районов с постоянным, высоким уровнем загрязнения, в которых КИЗА соответствовал бы аналогичным показателям в городах с высокоразвитой промышленностью, в г. Йошкар-Оле не обнаружено.

Для получения ферментативного гомогената навеску растительного материала (0,5 г) растирали в ступке с песком в 10—25 мл 60 мМ К-Nа-фосфатного буфера (рН 7,4). Гомогенат фильтровали и в нем определяли активность ферментов. Для выделения внутриклеточных пероксидаз гомогенат центрифугировали 10 мин при 3000 g и супернатант использовали для определения активности фермента.

Общую активность пероксидазы (КФ 1.11.1.7) измеряли по увеличению оптической плотности при 670 нм в реакционной смеси (3 мл), состоящей из K-Nафосфатного буфера (60 мМ, рН 7,0), бензидина (0,2 мМ), 0,3%-й  $\rm H_2O_2$  и 1 мл гомогената. Активность фермента определяли при 25 °C сразу после выделения и рассчитывали по методу Бояркина [3]. Активность пероксидазы выражали в мкмолях окисленного бензидина на грамм сырой массы в минуту (мкмоль ·  $\rm \Gamma^{-1}$  мин $^{-1}$ ).

Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) определяли титрометрическим методом [2]. Реакционная среда содержала 5 мл 3%-й  $\rm H_2O_2$  и 10 мл гомогената. После добавления перекиси водорода активность каталазы определяли по скорости выделения кислорода в течение 5 мин и выражали в мл выделенного  $\rm O_2$  на грамм сырой массы в минуту (мл  $\rm O_2~r^{-1}$  мин $^{-1}$ ).

Полученные данные подвергали стандартному статистическому анализу, используя программу «Statistica 6.0». Достоверность различий обсуждалась при 5% уровне значимости.

Пероксидаза — самая распространенная у растений терминальная оксидаза. Этот фермент довольно чувствителен к комплексу загрязняющих атмосферу веществ, и возрастание ее активности может свидетельствовать о проявлении защитных реакций тканей в неблагоприятных условиях.

В ходе проведенных исследований было отмечено, что в наиболее оптимальных условиях произрастания (контроль) активность пероксидазы в тканях декоративных цветочных растений была минимальной и, как видно из рис. 1, составляла 0.01—0.17 мкмоль  $\cdot$  г $^{-1}$  мин $^{-1}$ . Среди исследованных видов самой низкой активностью фермента характеризовалась сальвия блестящая, несколько большие значения данного показателя были у обоих видов бархатцев (0.04—0.08 мкмоль  $\cdot$  г $^{-1}$  мин $^{-1}$ ). Активность пероксидазы у лаватеры трехмесячной, петунии гибридной и астры китайской, произрастающих в чистом районе исследований (контроль), была статистически значимо выше, чем у других видов растений, и достигала 1.6—1.7 мкмоль  $\cdot$  г $^{-1}$  мин $^{-1}$ .

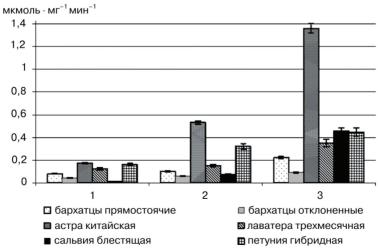


Рис. 1. Изменение активности пероксидазы в листьях однолетних декоративных растений в условиях городской среды 1 — условно чистый район, 2 — селитебная зона, 3 — промышленная зона

Таким образом, несмотря на оптимальные условия произрастания, активность пероксидазы у всех изученных растений имела специфические особенности, выражающие видовые особенности изучаемых растений.

По мере увеличения антропогенной нагрузки у всех исследованных видов растений происходило повышение пероксидазной активности в ассимиляционных тканях. При этом существенное увеличение исследуемого показателя в наиболее загрязненном районе исследования по сравнению с контролем наблюдалось у таких видов растений, как астра китайская (в 8 раз), петуния гибридная и лаватера трехмесячная (почти в 3 раза). Однако максимальное повышение активности фермента пероксидазы было отмечено у сальвии блестящей, у которой уже в селитебной зоне (средний уровень загрязнения атмосферного воздуха) произошло повышение активности фермента в 7,5 раз, а растения, произрастающие в промышленной зоне, обладали пероксидазной активностью, которая была еще в 6 раз выше, чем в среднезагрязненном районе.

В ряде работ [1; 7] показано, что кислые газы на свету инициируют возникновение свободнорадикальных цепных реакций окисления, в ходе которых образуются органические перекиси. Образование и накопление последних, по-видимому, обусловливает субстратную активацию пероксидазы, которая, как известно, при каталитическом действии может использовать органические перекиси в качестве источника активного кислорода. Известно, что с повышением активности пероксидазы усиливаются ее оксидазные свойства, следовательно, в условиях действия  $\mathrm{CO}_2$ ,  $\mathrm{SO}_2$ ,  $\mathrm{NO}_2$  может преобладать функционирование пероксидазы как терминальной оксидазы. Вероятно, что в этих условиях при ингибировании других оксидаз происходит адаптивная перестройка окислительного аппарата, препятствующая нарушению дыхательного процесса.

Важная роль в обмене веществ отводится также каталазе, которая широко распространена в растениях. Каталаза является одним из самых активных энзимов в природе, принадлежит к группе элитных ферментов, обладающих рекордными скоростями работы, играет определенную роль в процессах адаптации организма к стресс-факторам. Каталаза выполняет важную роль, разлагая токсичную для клеток перекись водорода, образовавшуюся в результате клеточного дыхания с участием флавиновых дигидрогеназ. Данный фермент принимает участие в разложении перекисей, регулируя смену фаз аэробных и анаэробных процессов, и участвует в окислении перекисей в пероксисомах при фотодыхании. Существенна роль каталазы в снабжении молекулярным кислородом участков ткани, куда доступ его затруднен. Известно, что активность фермента зависит от вида растения, возраста клеток, типа ткани и других факторов; оптимум действия каталазы наблюдается при рН = 6,5, а в более кислых и щелочных средах активность фермента уменьшается [9].

Исследование активности каталазы в тканях декоративных растений показало, что в условно чистом местообитании активность данного фермента довольно существенно отличалась у особей разных видов. Максимальной каталазной активностью, статистически значимо отличающейся от других видов, характеризовались особи лаватеры трехмесячной  $(70,0-70,9 \text{ мл} \cdot \text{O}_2 \text{ r}^{-1} \text{ мин}^{-1})$  (рис. 2). У саль-

вии блестящей и петунии гибридной данный показатель был ниже более чем в 2,5 раза, а самой низкой активностью фермента характеризовались особи астры китайской, бархатцев прямостоячих и бархатцев отклоненных.

Как показано на рис. 2, во всех изученных местообитаниях минимальные значения данного параметра были характерны для астры китайской и бархатцев отклоненных. У этих видов каталазная активность составляла 4,24—6,35 мл  $O_2 \, r^{-1} \, \text{мин}^{-1}$ , кроме того, в различных местообитаниях у данных видов значения изучаемого параметра не имели статистически значимых отличий, так же как и у бархатцев прямостоячих, которым была свойственна активность каталазы в пределах 10,0—13,4 мл  $O_2 \, r^{-1} \, \text{мин}^{-1}$ .

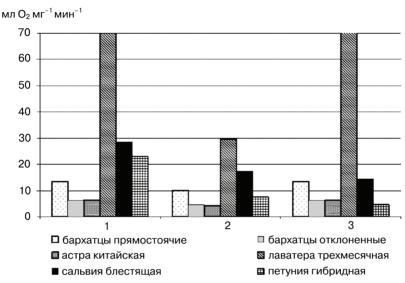


Рис. 2. Изменение каталазной активности в листьях однолетних декоративных растений в условиях городской среды

1 — условно чистый район, 2 — селитебная зона,

3 — промышленная зона

Максимальная активность каталазы во всех районах исследований была отмечена в тканях лаватеры трехмесячной, у которой наблюдались самые высокие значения в экологически контрастных местообитаниях значения (70,0—70,9 мл  $O_2 \, r^{-1} \, \text{мин}^{-1}$ ), а в районе со средним уровнем загрязнения атмосферного воздуха этот показатель резко понижался (29,7 мл  $O_2 \, r^{-1} \, \text{мин}^{-1}$ ). Такой двухфазный характер изменения активности фермента может указывать на процессы адаптации растений к условиям окружающей среды.

Для сальвии блестящей и петунии гибридной отмечалось статистически значимое снижение активности каталазы в районах со средним и высоким уровнем загрязнения атмосферного воздуха с 23,0—28,5 до 4,7—14,3 мл  $\rm O_2~r^{-1}$  мин $^{-1}$  соответственно.

Подобная картина изменений активности каталазы говорит о сложных процессах адаптаций растений, имеющих свою специфику у каждого вида растений, независимо от систематической принадлежности. По-видимому, достаточно вы-

сокие концентрации загрязняющих веществ вызывали окислительное повреждение фермента, что и привело к понижению его активности в результате накопления большого количества  $H_2O_2$ , либо блокирования активного центра каталазы поллютантами. Изменение активности фермента во многом связано с биологической особенностью вида и является до некоторой степени показателем реакции растительного организма на комплекс экологических воздействий. Большинство растений обладают пониженной активностью каталазы на загрязненных участках произрастания, и чем выше устойчивость вида к загрязняющим веществам, тем выше активность этого энзима, и наоборот, ингибирование активности фермента может являться диагностическим признаком слабой толерантности растений к эмиссионным нагрузкам [10].

Изменение в свойствах фермента могут быть понятны только в общей картине приспособлений всех метаболических реакций клетки к стрессу, т.е. имеют адаптационный характер и дают возможность противостоять неблагоприятным условиям среды. Изменение активности каталазы у различных видов растений, сопровождающееся активацией пероксидазы, наблюдали ряд исследователей [5; 7]. В данных работах показано, что чем активнее каталаза, тем выше газоустойчивость растений. Высокие значения активности каталазы у лаватеры трехмесячной позволяют предположить о большей устойчивости данного вида к условиям урбанизированной среды по сравнению с другими изученными видами.

Таким образом, увеличение уровня загрязнения атмосферного воздуха оказывает непосредственное влияние на изменение активности окислительно-восстановительных ферментов у ряда видов растений, а также способствует увеличению активности пероксидазы и снижению активности каталазы. Возможно, что повышение активности одного железосодержащего фермента — пероксидазы сопровождается ингибированием активности другого — каталазы. Низкие значения активности каталазы у таких видов, как бархатцы прямостоячие, бархатцы отклоненные и астра китайская, сопровождающиеся активацией пероксидазы в неблагоприятных условиях произрастания, могут указывать на их низкую адаптивную способность к неблагоприятным условиям среды и рекомендовать использовать их лишь в парковых и селитебных зонах, а для промышленных районов можно рекомендовать использовать лаватеру трехмесячную, сальвию блестящую и петунию гибридную, имеющих более пластичный ферментативный аппарат, позволяющий приспосабливаться растениям данных видов к меняющимся условиям произрастания.

## **ЛИТЕРАТУРА**

- [1] Андреева В.А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. М.: Наука, 1988.
- [2] Белозерский А.Н., Проскуряков Н.И. Практическое руководство по биохимии растений. М., 1951.
- [3] *Бояркин А.Н.* Быстрый метод определения активности пероксидазы // Биохимия. 1951. Т. 16. Вып. 4. С. 73—77.

- [4] Воскресенская О.Л., Грошева Н.П. Руководство к большому практикуму. Ч. 1. Йошкар-Ола, 1994.
- [5] Воскресенская О.Л., Сарбаева Е.В. Эколого-физиологические адаптации туи западной (Thuja occidentalis L.) в городских условиях: Монография // Йошкар-Ола: Мар. гос. ун-т, 2006.
- [6] Духовский П, Дкнис Р., Бразайтите А., Жукаускайте И. Реакция растений на комплексное воздействие природных и антропогенных стрессов // Физиология растений. 2003. T. 50. № 2. C. 165—170.
- [7] Николаевский В.С. Биологические основы газоустойчивости растений. Новосибирск: Наука, 1979.
- [8] Николаевский В.С. Экологическая оценка загрязнения окружающей среды и состояния наземных экосистем методами фитоиндикации. М.: МГУЛ, 1999.
- [9] *Цегарем М.П., Пруидзе Г.Н.* Субклеточная локализация каталазы в листьях чайного растения // Субтропические культуры. 1990. № 4. С. 47—51.
- [10] Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2002.
- [11] Шевякова Н.И., Стеценко Л.А., Мещеряков А.Б., Кузнецов В.В. Изменение активности пероксидазной системы в процессе стесс-индуцированного формирования САМ // Физиология растений. 2002. Т. 49.  $\mathbb{N}_2$  5. С. 670—677.
- [12] Экология города Йошкар-Олы: научное издание / Мар. гос. ун-т; отв. ред. О.Л. Воскресенская. Йошкар-Ола, 2007.

## CHANGE OF ACTIVITY FERRIFEROUS OXIDAZE AT DEKO-RATIVNYH PLANTS IN THE CONDITIONS OF THE URBANIZED CIRCLE

E.V. Sarbaeva, O.L. Voskresenskaja

Biologo-chemical faculty Mari state university Osipenko, 60, Ioshkar Ola, Russia, 424002

In the conditions of the city environment activity ferriferous of the oxidase in leaves of annual ornamental plants was studied. In the conclusion recommendations about selection of assortment of cultivation of ornamental plants in different parts of the city of Ioshkar Ola.