

УДК 712.253(477.63)

ЗМІНИ ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ЛИСТКІВ ВИДІВ РОДУ *ACER* L. ЗА УМОВ ТЕХНОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ

Ловинська В.М., Зайцева І.А., Ситник С.А.

Дніпропетровський державний аграрний університет

Исследованы изменения физиолого-биохимических показателей листьев различных видов кленов, которые произрастали в условиях техногенной среды. Установлено, что промышленно-транспортные выбросы существенно влияют на количественное и фракционное содержание водорастворимых белков листьев клена остролистного и ясенелистного, а также индуцируют процессы антиоксидантной системы при участии фермента пероксидазы. Изменение энзиматической активности зависит от видовой принадлежности растения и степени загрязнения опытного участка, на котором произрастали исследуемые растения.

A. platanoides, A. negundo, выбросы автотранспорта, пероксидаза, водорастворимые белки

ВСТУП

Для багатьох міст України характерна складна екологічна обстановка, обумовлена наявністю і концентрацією підприємств чорної і кольорової металургії, теплоенергетики, хімії і нафтохімії, гірничодобувної промисловості, цементних заводів. Такі міста є безперечними лідерами за рівнем забруднення повітря і серед них не останнє місце посідає місто Дніпропетровськ. Наявність у містах зелених насаджень є одним із найбільш сприятливих екологічних факторів, так як вони відіграють першочергову роль у поглинанні пилу, очищенні повітря від шкідливих газів, є засобом боротьби із викидами автомобільного транспорту. Ефективність сприятливого впливу зелених насаджень може змінюватись у досить широких межах – від 7 до 35 % [1].

Різноманітні види деревних рослин відрізняються різною чутливістю до техногенного впливу, в тому числі й до вихлопних газів автотранспорту.

Зовнішнє середовище міста, у якому розвиваються рослини, впливає на характер перебігу метаболічних процесів, зокрема, на стан антиоксидантної та білкової системи. Активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) є одним із можливих компонентів швидкої реакції на стрес у рослинному організмі. ПОЛ у клітині підтримується на постійному рівні завдяки існуванню багаторівневої антиоксидантної захисної системи. Зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги є однією з перших неспецифічних ланок у розвитку стрес-реакції та може слугувати, згідно з В.А. Барабой [2], тією біологічно важливою зміною внутрішнього середовища рослинної клітини, яка запускає інші механізми захисту.

В умовах усе більшої інтенсифікації техногенного впливу на рослини, зростає необхідність накопичення інформації щодо реакції деревних порід за участі сигнальних систем.

У зв'язку з цим метою роботи було дослідження із визначення змін вмісту та компонентного складу водорозчинних білків, а також активності ферменту пероксидази листків *Acer platanoides* L. та *Acer negundo* L. в різних умовах місцезростання рослин.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У якості об'єктів дослідження нами були обрані рослини кленів гостролистого (*A. platanoides* L.) – аборигенного виду, та ясенелистого (*A. negundo* L.) – інтродукованого виду. Листки рослин відбирали у жовтні місяці у Кіровському лісництві Дніпропетровського держлісгоспу (умовно чистий контроль), у парку Леніна м. Дніпропетровськ (середньозабруднена зона, вплив металургійних підприємств із повним виробничим циклом) та на вул. Набережна Заводська (забруднена викидами автотранспорту зона, інтенсивність руху автомобільного транспорту складає ~ 30000 шт. за добу). На кожній дослідній ділянці відбирали по 10 дерев типових особин видів однієї вікової групи (~30 років), які належали до категорії здорових рослин (непошкоджені). Вміст білка в листках визначали за методом Бредфорда [6], що заснований на утворенні кольорових комплексів білка з розчином барвника Coomassie G – 250. Сумарні білки фракціонували в дисоціюючій системі 12,5 % ППАГ за методом Леммлі [7]. Активність пероксидази визначали за методом А.Н. Бояркіна [3].

Математичну обробку отриманих даних проводили варіаційно-статистичним методом з використанням програми Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вивчення вмісту білків у листках одновікових рослин *A. platanoides* L. різних дослідних ділянок виявило відмінності у білковій системі, що значним чином залежали від місця відбору проб.

Так, у листках дослідних рослин, зібраних у парку ім. Леніна, відзначається найбільший вміст білків (18,0 мг/г сухої речовини), тоді як у листках контрольних рослин, зібраних у Кіровському лісництві, він був нижчий на 12,5 % (табл. 1). У листках рослин, що зростають на вул. Набережна Заводська, відмічено найнижчий вміст водорозчинних білків величиною 12,0 мг/г, що на 25 % нижче, ніж у контрольному варіанті.

Зменшення загального вмісту білків у листках рослин клену гостролистого за стресових умов, ймовірно, зумовлене посиленням розщеплення їх протеазами та пригніченням синтезу конституційних білків [5].

Встановлено, що за умов впливу техногенного навантаження у листках виду *A. negundo* вміст білків інтенсивно зростає у два рази (парк ім. Леніна) та на 33 % (вул. Набережна Заводська) порівняно з контролем.

Таблиця 1 – Зміни вмісту водорозчинних білків у листках *A. platanoides* L. та *A. negundo* L., що зростають в умовах різного ступеня забруднення

Вид	Варіанти дослідів	A, мг/г	t	% до контролю
<i>A. platanoides</i>	Контроль (Кіровське лісництво)	16,0±0,01	-	-
	Дослід I (парк ім. Леніна)	18,0±0,011	6,7	112,5
	Дослід II (Набережна Заводська)	12,0±0,012	13,3	75,0
<i>A. negundo</i>	Контроль (Кіровське лісництво)	9,0±0,02	-	-
	Дослід I (парк ім. Леніна)	19,0±0,019	20,0	211,0
	Дослід II (Набережна Заводська)	12,0±0,011	9,5	133,3

*Примітка: різниця статистично достовірна при $p < 0,05$

Для більш детального розуміння особливостей змін внутрішньоклітинної структури і популяції рослин за впливу факторів різної етіології використовують метод електрофорезу поліморфних білків, що дозволяє виявити приховану генетичну мінливість [4].

Паралельно проведений електрофоретичний аналіз буфер-екстрагованих фракцій білків із листків клену гостролистого виявив зміни у співвідношенні вмісту деяких високо- і низькомолекулярних поліпептидних фракцій у ході експерименту (табл. 2).

Для контрольних зразків *A. platanoides* L. зареєстровано 10 поліпептидів з Mг від 10,5 до 155,0 кД. Для листків дослідних рослин характерна наявність більшої кількості поліпептидів – 12 (парк ім. Леніна) та 14 (вул. Набережна Заводська). Основні за накопиченням білка в зоні як у дослідних, так і контрольних листках є компоненти з Mг 155; 126; 33,9 кД.

Таблиця 2 – Відносний вміст білка в ЕФ-спектрі листків *A. platanoides* L. та *A. negundo* L., що зростають в умовах різного ступеня забруднення, %

Mг, кД	<i>Acer platanoides</i>			<i>Acer negundo</i>		
	Контроль (Кіровське лісництво)	Дослід I (парк ім. Леніна)	Дослід II (Набереж-на Заводська)	Контроль (Кіровське лісництво)	Дослід I (парк ім. Леніна)	Дослід II (Набереж-на Заводська)
155,000	6,07	5,01	2,73	15,12	4,06	4,29
145,000	-	-	-	4,16	-	3,62
139,000	-	-	-	5,75	-	2,96
126,000	24,74	-	2,44	2,21	2,45	1,93
93,4	8,30	-	-	5,28	19,04	1,62
79,5	-	-	-	-	5,71	-
77,7	-	8,12	2,77	-	-	-
75,9	-	5,11	-	-	-	-
74,2	-	-	-	6,45	-	-
70,8	-	-	-	-	-	2,78
61,7	-	-	1,45	4,31	-	-
56,3	19,44	-	-	-	-	-
41,7	-	-	1,29	-	-	-

40,8	-	-	7,31	-	-	-
37,4	-	-	-	-	-	73,37
34,7	6,63	-	-	-	-	-
33,9	-	23,07	2,62	47,99	59,75	-
30,9	-	17,01	-	6,22	-	-
28,9	-	8,11	-	-	-	-
27,6	-	-	4,49	-	-	-
25,2	-	-	-	-	3,86	-
24,0	8,01	8,10	3,50	-	-	2,02
20,5	5,33	-	2,24	-	-	-
19,5	-	3,78	-	-	-	-
17,8	-	5,68	-	-	-	-
15,9	7,42	-	57,72	-	-	-
11,5	3,90	3,80	0,81	-	-	2,22
11,0	-	6,87	9,55	-	-	-
10,5	3,67	5,34	1,09	2,50	5,13	5,18

Показано, що основним впливом антропогенного навантаження є якісні перебудови в компонентному складі водорозчинного білка листків *A. platanoides* L., хоча певної закономірності у змінах встановити не вдалося. Слід зазначити, що у рослин, які зростали у парку ім. Леніна, була відсутня фракція з молекулярною масою 126 та 93, 4 кД в листках рослин (табл. 2) і, навпаки, з'являлись фракції 77,7 кД (характерно і для варіанту вул. Набережна Заводська) і 75,9 кД.

Для обох зразків з дослідних ділянок 1 та 2 фіксувалася втрата білкових компонентів із більш низькими молекулярними масами – 56,3 та 34,7 кД. У рослин з паркової зони формується цілий комплекс білків з молекулярними масами 33,9; 30,9; 28,9; 19,5; 17,8; 11,0, що є відсутніми у рослин, які зростали в умовах лісництва.

Визначено, що за дії промислово-транспортних викидів спостерігаються суттєві зміни вмісту складових компонентів водорозчинних білків листків *A. platanoides* L. (табл. 2). Як у контрольному, так і в дослідних варіантах у листках клену гостролистого основні за кількістю білка є фракції з Mr 155,0; 126,0; 33,9 кД. За впливу факторів антропогенної природи у дослідних зразках білки з Mr 155,0; 126,0; 24,0; 11,5; 10,5 кД (вул. Набережна Заводська) показали знижену здатність до акумуляції, у той час як поліпептиди з Mr 15,9; 10,5 кД (парк ім. Леніна) виявили більш значний рівень накопичення.

Кількість, а особливо склад поліпептидів водорозчинних білків листків *A. negundo* L. значно варіює (табл. 2). Як виявив кількісний аналіз компонентного складу білків листків контрольного та дослідного варіанту 2, загальне число білкових компонентів у обох випадках дорівнювало 10 (Mr від 10,5 до 155,0 кД), тоді як у парковій зоні фіксувалось збіднення компонентного складу поліпептидів до семи. У дослідному варіанті 1 спостерігається зникнення білкових компонентів з Mr 145,0; 149,0; 30,9 кД та поява поліпептидів з Mr 79,5; 25,2 кД. Для обох дослідних варіантів (парк ім. Леніна, Набережна Заводська) зареєстрована відсутність компонентів з Mr 74,2; 61,7 та 30,9 кД. За інтенсивної дії інгредієнтів викидів автотранспорту (вул. Набережна Заводська) відзначається утворення чотирьох компонентів білків з різною молекулярною масою: 70,8; 37,4; 24,0 та 11,5 кД. Спираючись на отримані дані, можна відзначити, що в умовах дії промислового та автомобільного забруднення знижується рівень поліпептидних фракцій з Mr від 93,4 до 155,0 кД.

Дія факторів антропогенної природи на вегетативні органи рослин виду *Acer platanoides* L. приводила до суттєвого підвищення активності ферменту пероксидази. Для клену гостролистого, що росте у парку ім. Леніна, відмічено зростання рівня ензиматичної активності на 133,0 % порівняно із контролем, така ж закономірність прослідковується у іншому дослідному варіанті – Набережна Заводська, але зі значно ширшою амплітудою змін – майже у п'ять разів (табл. 3).

Таблиця 3 – Активність пероксидази у листках *A. platanoides* L. та *A. negundo* L., що зростають в умовах різного ступеня забруднення

Вид	Варіанти досліду	Активність, відн. од./г наважки·хв	% до контролю	t
<i>A. platanoides</i>	Контроль (Кіровське лісництво)	27,68 ± 0,38	-	-
	Дослід I (парк ім. Леніна)	64,50 ± 1,8	233,0	0,42
	Дослід II (Набережна Заводська)	131,33 ± 9,83	474,5	0,21
<i>A. negundo</i>	Контроль (Кіровське лісництво)	76,05 ± 5,0	-	-
	Дослід I (парк ім. Леніна)	129,83 ± 3,68	170,7	0,55
	Дослід II (Набережна Заводська)	169,73 ± 0,63	223,2	0,42

Подібна закономірність змін активності досліджуваного ферменту зафіксована і для іншого вивчаемого виду – клену ясенелистого. Слід відзначити, що активність антиоксидантного ферменту в листках контрольного варіанту даного виду (76,05 відн. од./г наважки·хв) була майже втричі вищою, ніж активність пероксидази в листках клену гостролистого у тому ж варіанті (27,68 відн. од./г наважки·хв) (табл. 3).

Антропогенне навантаження (ділянка 1, парк ім. Леніна) зумовлювало зростання в листках інтенсивності функціонування пероксидази в 1,7 рази порівняно з рослинами з лісництва. Окрім цього, необхідно зазначити, що у варіанті за дії високої концентрації інгредієнтів автомобільних викидів (вул. Набережна Заводська) активність пероксидази збільшувалась ще більше – на 123,0 % відносно контрольного варіанту.

Отже, у всіх дослідних варіантах динаміка змін активності пероксидази мала подібний характер. У листках виду рослин *A. platanoides*, за впливу викидів автотранспорту (вул. Набережна Заводська) фіксували найбільш високі значення активності пероксидази.

Для більш детальної оцінки стану зелених насаджень вул. Набережна Заводська та парку ім. Леніна перспективним є дослідження морфо-анатомічних показників деревних рослин.

ВИСНОВКИ

1. Хронічна дія на рослини інгредієнтів автомобільних та промислових викидів спричинює суттєве підвищення концентрації водорозчинних білків у листках *Acer negundo* L., тоді як у *Acer platanoides* L. зафіксовано падіння вмісту досліджуваних білків.

2. В умовах техногенезу в листках *Acer negundo* L. змінюється співвідношення білкових фракцій у бік зменшення частки високомолекулярних білків.

3. Прямопропорційно зростанню антропогенного пресу у листках *Acer platanoides* L. дослідних варіантів фіксується поява нових фракцій водорозчинних білків (з 10 до 12 та 14 компонентів).

4. При зростанні техногенного навантаження на рослини збільшується активність пероксидази у листках, причому у більш значному ступені у виду *Acer platanoides* L.

5. Виявлено існування різних стратегій адаптивних реакцій на техногенний стрес у різних за походженням видів кленів – у аборигенного виду (*A. platanoides* L.), як за рахунок суттєвої інтенсифікації пероксидази, так і мобілізації активності білоксинтезуючої системи; в інтродукованого виду (*A. negundo* L.) більшого значення набуває система антиоксидного захисту.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Александровская З.И. Чтобы город был чистым / З.И. Александровская, Я.В. Медведев, А.Г. Богачев. – М.: СТРОЙИЗДАТ, 1989. – С. 3–39.
2. Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин. – СПб.: Наука, 1992. – 148 с.
3. Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы / А.Н. Бояркин // Биохимия, 1951. – Т. 16, вып. 4. – С. 352–355.
4. Гумилевская Н.А. Белки осевых органов покоящихся и прорастающих семян конского каштана. 1. Общая характеристика белков / Н.А. Гумилевская, М.И. Азаркович // Физиология растений, 2001. – Т.48, №1. – С.5–17.

5. Косаківська І.В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів / І.В. Косаківська. – К.: Сталь, 2003. – 191 с.
6. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding / *Anal. Biochem.* – 1976. – P. 248–254.
7. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / *Natura.* – 1970. – V. 227, №52 – 59. – P. 680–685.

ASSESSMENT OF PERSPECTIVE OF THE USE OF *ACER* L. SPECIES IN GREENING OF DNIPROPETROVSK

Lovynska V.M., Zaitseva I.A., Sytnyk S.A.

An assessment of the use of species of the genus *Acer* L. in industrial city has been carried out. It was found that industrial-transport emissions significantly influence the quantitative and fractional content of water-soluble proteins of leaves of *A. platanoides* and *A. negundo*, and also induce the processes of antioxidant system by the enzyme peroxidase.

The protein content in leaves of even-aged plants of *A. platanoides* L. significantly depends from the place of sampling. The largest content of protein was indicated in the leaves selected in Lenin park, whereas the control plants leaves content of Kyrovske Forestry is lower on 12,5 %. The lowest content of soluble protein (on 25 % lower than the control variant) was noted in the leaves of plants that grow on Naberezhna Zavodska street. The decrease of total protein content in the leaves of *A. platanoides* L. under stress conditions is supposed to be caused by increasing of their splitting by proteases.

It was established that under technogenic influence in the leaves of *A. negundo* species content of protein intensively grew in 2 times (Lenin park) and for 33 % (Naberezhna Zavodska street) compared to the control.

Using the method of electrophoretic analysis the greater number of the polypeptide elements – 12 (Lenin park) and 14 (Naberezhna Zavodska street) in the maple leaves were identified compared to the control variant. For the protein accumulation in the zone both of the experiment and control leaves the main are the components with Mr 155, 126, 33,9 kD. For the samples of the experimental plots the loss of protein components with the lower molecular masses (56,3 and 34,7 kD) is fixed.

For the action of industrial and transport emissions, the significant changes of in the content of water-soluble protein components in leaves of *A. platanoides* L are observed. For the amount of protein in both the control and experimental variants of leaves of *A. platanoides* L. the main are the fractions with Mr 155,0; 126,0; 33,9 kD.

The total number of protein components of *A. negundo* L. in the control and experimental variant No. 2 (Naberezhna Zavodska street) was 10 (Mr from 10,5 to 155,0 kD), while in the park zone the decrease of component composition of polypeptides to 7 is fixed. In both experimental variants the lack of components with Mr 74,2; 61,7 and 30,9 kD is registered. With the intensive action of components of emission of motor transport (Naberezhna Zavodska street) the formation of the four components of proteins with different molecular mass: 70,8, 37,4, 24,0 and 11,5 kD is indicated. In conditions of the action of industrial and automotive pollution the content of polypeptide fractions with Mr reduced from 93,4 to 155,0 kD.

Under the influence of anthropogenic factors, the activity of peroxidase enzyme of *A. platanoides* L. species increased. In the plants that grow in Lenin park the level of enzymatic activity increased on 133 % compared to control and the level of the investigated enzyme of plants from Naberezhna Zavodska street is almost 5 times higher. A similar pattern of changes of the activity of the investigated enzymes and for the other investigated species of *A. negundo* L. is fixed. The peroxidase activity in *A. negundo* L. in control variant is almost 3 times higher than the activity of peroxidase in *A. platanoides* L. in the same form.

The anthropogenic press in the leaves of plants from the experimental plot No.1 (Lenin park) predetermined the increasing of intensity of peroxidase activity functioning in 1,7 times compared to the plants growing in the forestry. In the variant with a high concentration of components of automobile emissions (Naberezhna Zavodska street) the peroxidase activity increased even more, that is on 123 % compared to the control variant.

УДК 712.253(477.63)

Ловинська В.М. Зміни фізіолого-біохімічних показників листків видів роду *Acer* L. за умов техногенного забруднення / В.М. Ловинська, І.А. Зайцева, С.А. Ситник // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2013. – Вип. 18, № 2. – С. 190–200.

Досліджено зміни фізіолого-біохімічних показників листків різних видів кленів, які виростили в умовах техногенного середовища. Встановлено, що промислово-транспортні викиди суттєво впливають на кількісний та фракційний вміст водорозчинних білків листків клену гостролистого та ясенелистого, а також інтенсифікують процеси антиоксидантної системи за участі ферменту пероксидази. Зміна ензиматичної активності залежить від видової належності рослин та ступеню забруднення досліджуваної ділянки.

Табл. 3. Бібл. 7.