

УДК 57.033/574.24

РОЛЬ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ ОКСИДАЗ В АДАПТАЦИИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ К ФАКТОРАМ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ (НА ПРИМЕРЕ ГОРОДА САРАТОВА)

© 2016 З.А. Симонова, Е.И. Тихомирова, И.С. Шайденко

Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.

Статья поступила в редакцию 14.11.2016

Исследована сезонная динамика активности железосодержащих оксидаз (пероксидазы и каталазы) в листьях *Betula pendula* и *Populus pyramidalis*, произрастающих на территории г. Саратова. Показано, что в течение вегетационного периода древесные растения пытаются противостоять неблагоприятным условиям городской среды за счет изменения активности пероксидазы. У *B. pendula* к концу вегетационного периода активность данного фермента оказывается пониженной, что свидетельствует о снижении адаптационных способностей растения. У *P. pyramidalis* отмечается небольшое увеличение пероксидазной активности, что свидетельствует об их устойчивом характере приспособления к негативным факторам городской среды. Показано, что по сравнению с фоновой территорией у исследуемых деревьев отмечалась низкая активность каталазы. В городских условиях в течение вегетационного периода активность каталазы в листьях *B. pendula* и *P. pyramidalis* практически оставалась без изменения и характеризовалась низкими значениями. Ингибирование активности каталазы является показателем пониженных адаптационных возможностей деревьев.

Ключевые слова: пероксидаза, каталаза, ферментативная активность, адаптация, древесные растения, *Betula pendula*, *Populus pyramidalis*, городская среда

В последнее время в городах все более актуальными становятся вопросы, связанные с ростом, развитием и функционированием зеленых насаждений, роль которых в урбанизированной среде очень велика. Они смягчают климатические особенности города, способствуют повышению ионизации воздуха, выполняют противошумовой эффект. Кроме того, все растительные организмы работают как своеобразные живые фильтры, поглощающие из воздуха пыль и всевозможные химические загрязнения [1]. В условиях городской среды растения постоянно испытывают негативное воздействие, что сказывается на их росте, развитии и функциональной активности. Особо ценную информацию в плане изучения механизмов адаптации к условиям техногенной среды представляют древесные растения, преимущества которых перед другими объектами заключаются в том, что они являются многолетними. Это позволяет отслеживать отдаленные последствия воздействия загрязняющих веществ, определять характер изменения при длительном их воздействии.

Наиболее часто при изучении устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды учитывается активность антиоксидантных

ферментов, которые либо предотвращают образование активных форм кислорода (АФК), либо разрушают их. Большое количество АФК в клетках растений может привести к окислительному стрессу. В настоящее время к числу АФК относят производные кислорода радикальной природы (супероксид-радикал (анион-радикал), гидроперекисный радикал, гидроксил-радикал), а также его реактивные производные (перекись водорода, синглетный кислород и пероксинитрит) [2]. Образование и быструю диффузию через мембраны перекиси водорода в последние годы рассматривают как проявление сигнальной функции, а именно как вторичный мессенджер при трансдукции стрессорного сигнала, включающего индукцию синтеза ферментов-антиоксидантов [3]. Одними из наиболее важных антиоксидантных ферментов являются железосодержащие оксидазы – пероксидаза и каталаза.

Пероксидаза (КФ 1.11.1.7) в присутствии перекиси водорода катализирует окисление различных органических и неорганических соединений. За счет каталазы (КФ 1.11.1.6) в основном происходит восстановление перекиси водорода, образующейся в частности в реакциях дисмутации супероксиданион-радикала, до воды. Оба фермента для проявления своих функций нуждаются в достаточно высоких концентрациях перекиси водорода [4].

Цель работы: исследование активности пероксидазы и каталазы в листьях *Betula pendula* и *Populus pyramidalis* под влиянием различных факторов городской среды.

Симонова Зоя Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии. E-mail: simonovaza@yandex.ru

Тихомирова Елена Ивановна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой экологии. E-mail: tichomirova_ei@mail.ru

Шайденко Илья Сергеевич, студент

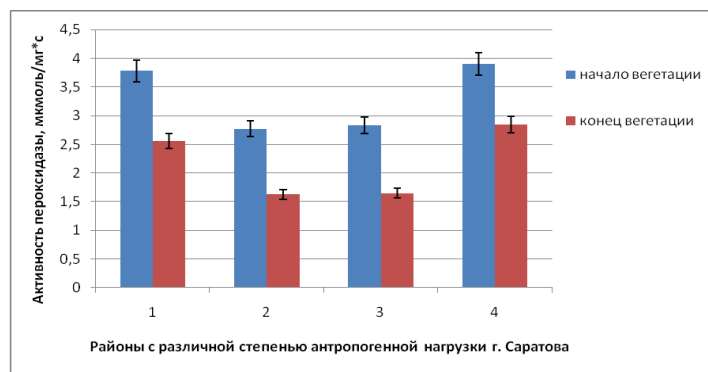
Материалы и методы. Из материалов Доклада «О состоянии и об охране окружающей среды Саратовской области в 2015 году» [5] г. Саратов отличают высокий и неоднородный уровень техногенного загрязнения (в качестве веществ - загрязнителей атмосферы фиксируют формальдегид, диоксид азота, оксиды углерода и серы, аммиак и др.). Для проведения исследования нами были выбраны участки, расположенные в местах оживленного транспортного движения, вблизи крупных промышленных предприятий (на территориях санитарно-защитных зон) и в местах массового отдыха горожан. Участки исследования находились в различных административных районах города. В качестве фонового участка использовался район села Усовка Воскресенского района, находящийся в 50 км от г.Саратова в северном направлении.

Материалом исследования являлись листья *Betula pendula* и *Populus pyramidalis*, которые отбирались по окружности кроны деревьев на высоте 1,5 м. Сборы листьев проводились в одно и то же время суток (в период от 11.00 до 14.00) в ясную погоду. Выборку листьев каждого изучаемого вида делали с 10 близко расположенных деревьев на площади 10×10 м или на аллее длиной 30-40 м. Всего собиралось не менее 25 листьев среднего размера с одного растения. Использовались только средневозрастные растения, исключались молодые и старые [6]. Исследование проводилось в начале (апрель – май) и конце (сентябрь – октябрь) нескольких вегетационных периодов (2010 – 2016 гг.).

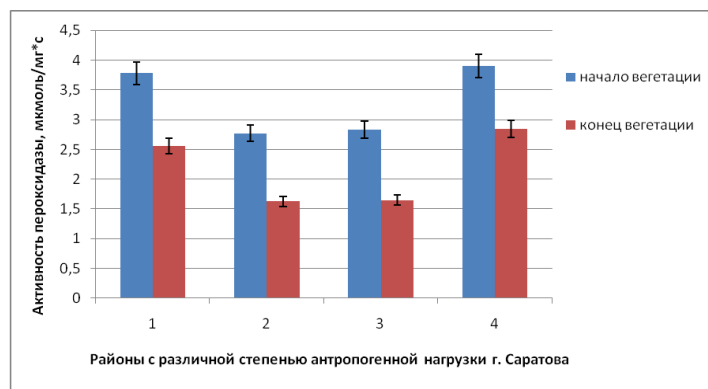
Активность пероксидазы в листьях древесных растений определяли с помощью фотометрического метода по окислению бензидина [7]. Активность каталазы определяли титриметрическим методом. Единица измерения активности каталазы согласно этому методу представляет собой мкмоль H_2O_2 , разлагаемой 1 г исследуемого вещества в течение 1 минуты [8]. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по общепринятым методикам с использованием

t-критерия Стьюдента [9]. Расчёт результатов осуществляли с применением пакета прикладных программ Statistica 6.0 (for Windows; «Stat Soft Inc.», США), Microsoft Excel 2007 (for Windows XP).

Результаты исследования и их обсуждение. Обобщение данных различных вегетационных периодов (2010-2016 гг.) позволяет нам говорить о вполне отчетливо выраженном характере временной динамики содержания пероксидазы в листьях *B. pendula* и *P. pyramidalis*. В начале вегетационного периода (первая-вторая декада мая) содержание этого фермента достигает весеннего максимума, как в листьях березы, так и в листьях тополя, что соответствует активным ростовым и метаболическим процессам в формирующихся листовых пластинках (рис. 1). Наиболее высокие показатели активности пероксидазы в мае в листьях *B. pendula* были зафиксированы на участках, являющихся крупными транспортными узлами города, для которых характерно максимальное скопление автотранспорта в течение дня. Растения в этих районах испытывают постоянное негативное воздействие выхлопных газов автомобилей, которые содержат CO_2 , SO_2 , NO_2 , являющиеся кислыми газами. Как известно, кислые газы на свету инициируют возникновение свободно радикальных цепных реакций окисления, в ходе которых образуются органические перекиси [10]. Образование и накопление последних, по-видимому, обуславливает субстратную активацию пероксидазы, которая 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 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.



а)



б)

Рис. 1. Активность пероксидазы в листьях *Betula pendula* (а) и *Populus pyramidalis* (б), произрастающих в районах г.Саратова с различной степенью антропогенной нагрузки:

1 – районы городских автомагистралей; 2 – районы СЗЗ предприятий;

3 – районы рекреационных зон; 4 – фоновая территория

У *P. pyramidalis* в начале вегетационного периода наибольшей активностью фермента обладали деревья, произрастающие в зоне влияния крупных химических предприятий г. Саратова. Скорее всего, увеличение активности пероксидазы на этих участках обусловлено выбросами предприятий, среди которых в большом количестве содержатся органические соединения, являющиеся хорошими субстратами для пероксидазы. Выбросы автотранспорта существенного значения на активность пероксидазы в листьях тополей не оказывали. Следует отметить, что по сравнению с березой тополи с начала вегетационного периода обладают повышенной активностью фермента: активность пероксидазы у тополей в 10 раз превышает активность этого же фермента у березы.

В конце вегетационного периода (первая-вторая декада сентября) в листьях березы отмечается обратное изменение активности пероксидазы – в тех районах, где она была повышенной в мае, в сентябре становится пониженной, и наоборот. В целом, активность пероксидазы в листьях березы за вегетационный период понижается в 7 раз. Это можно объяснить тем, что растения, произрастающие в условиях постоянного воздействия автомобильного транспорта, в течение всего вегетационного периода находятся в состоянии стресса. В результате их адаптационные способности, обусловленные активацией оксидаз, оказываются сведенными до минимума. Кроме того, следует учитывать, что в конце вегетационного периода метаболическая активность растений угасает, и они готовятся к периоду зимнего покоя.

В листьях тополей в конце вегетационного периода отмечается, наоборот, небольшое увеличение пероксидазной активности, что свидетельствует об их устойчивом характере приспособления к негативным факторам. В конце вегетаци-

онного периода пероксидазная активность в листьях тополя в 87 раз превышает таковую в листьях березы. Это свидетельствует о том, что тополи являются более устойчивыми к негативным факторам городской среды, и, следовательно, обладают относительно высокими адаптационными способностями. Кроме того, следует отметить, что растения с повышенной пероксидазной активностью характеризуются и повышенной фотосинтетической активностью, что имеет важное значение для создания биологической продукции [10].

Активность каталазы в листьях *Betula pendula* и *Populus pyramidalis* в городских условиях в течение вегетационного периода практически оставалась без изменения, несмотря на то, что тополи являются более устойчивыми видами и обладают повышенной каталазной активностью [11]. На фоновой территории прослеживалось статистически достоверное отличие активности фермента у исследуемых растений: тополя обладали более высокими значениями данного параметра, как в начале, так и в конце вегетационного периода. Однако по сравнению с фоновой территорией активность каталазы для берез, произрастающих в городе, в среднем в 1,5 раза (в начале вегетационного периода) и в 2 раза (в конце вегетационного периода) была ниже, что свидетельствует о негативном влиянии факторов городской среды на рост и развитие растения. Аналогичная ситуация отмечалась и у тополей. В этом случае активность фермента в начале вегетационного периода в 2 раза, а в конце периода – в 3 раза была ниже в городских условиях (рис. 2).

Изменение каталазной активности во многом связано с биологической особенностью вида и является до некоторой степени показателем реакции растительного организма на комплекс экологических воздействий. Оптимум действия каталазы наблюдается при pH 6,5, в более кислых

или щелочных средах активность фермента уменьшается [12]. В нашем случае деревья произрастают в условиях постоянного воздействия выхлопных газов автомобилей, которые создают подкисленную среду, или находятся под влиянием выбросов предприятий, содержащих органические вещества, что и приводит к снижению активности фермента по сравнению с фоновой территорией. Немаловажную роль играет

длительность воздействия неблагоприятных факторов: чем дольше воздействие, тем менее активен фермент. Поскольку длительное воздействие высоких концентраций загрязняющих веществ может привести к окислительному повреждению фермента, происходит понижение его активности в связи с накоплением большого количества перекиси.

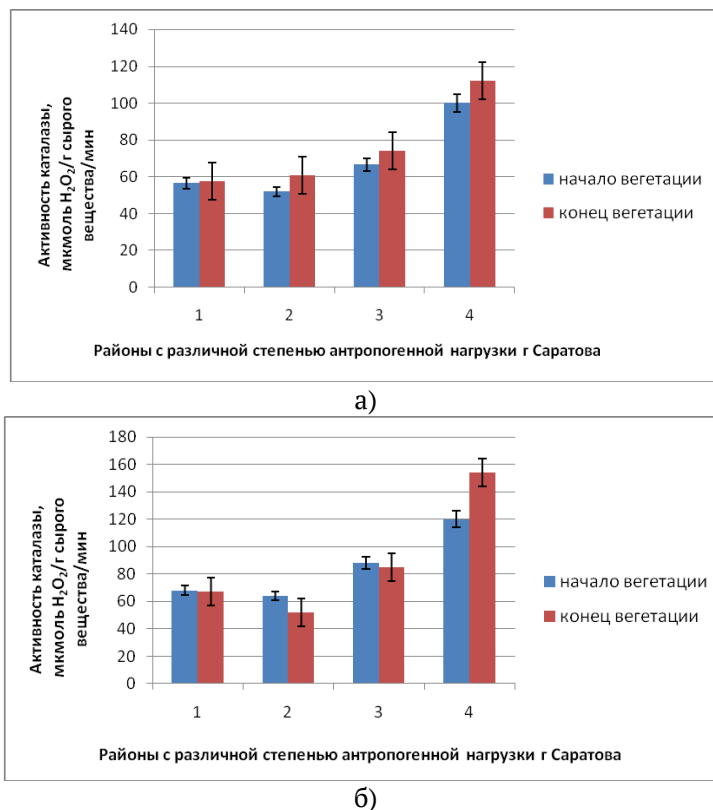


Рис. 2. Активность каталазы в листьях *Betula pendula* (а) и *Populus pyramidalis* (б), произрастающих в районах г.Саратова с различной степенью антропогенной нагрузки:

1 – районы городских автомагистралей; 2 – районы СЗЗ предприятий;
3 – районы рекреационных зон; 4 – фоновая территория

Изменение в свойствах фермента может быть понятно только в общей картине приспособлений всех метаболических реакций клетки к стрессу, т.е. имеют адаптационный характер и дают возможность противостоять неблагоприятным условиям среды. Ряд исследователей отмечали, что изменение активности каталазы у различных видов растений сопровождается активацией пероксидазы [13]. Выше нами было показано, что для древесных растений, произрастающих в г. Саратове характерно повышенное значение пероксидазной активности. Возможно, что повышение активности одного антиоксидантного фермента – пероксидазы сопровождается ингибированием активности другого – каталазы. На фоновой территории деревья произрастают в относительно чистых условиях и не испытывают прямого негативного влияния городской среды. В

результате метаболические процессы протекают в обычном ритме, деревья не находятся в угнетенном состоянии, активность изучаемого фермента оказывается более высокой по сравнению с городскими условиями.

Выводы: изменение активности железосодержащих оксидаз (пероксидазы и каталазы) свидетельствует о сложных процессах адаптации *Betula pendula* и *Populus pyramidalis* к неблагоприятным факторам городской среды. В течение всего вегетационного периода древесные растения пытаются противостоять неблагоприятным условиям городской среды за счет активации пероксидазы. К концу вегетационного периода у *B. pendula* активность данного фермента оказывается пониженной, что свидетельствует о снижении адаптационных способностей растения. У *P. pyramidalis*, наоборот, отмечается небольшое увеличение пероксидазной активности,

что свидетельствует об их устойчивом характере приспособления к негативным факторам городской среды. Катазная активность у обоих видов исследуемых древесных растений, произрастающих в городе, в течение вегетационного периода характеризовалась низкими значениями, что свидетельствует о пониженных адаптационных возможностях и *Betula pendula*, и *Populus pyramidalis* по данному показателю, несмотря на то, что тополя являются более устойчивыми к негативным факторам. Изменение активности пероксидазы и каталазы может являться диагностическим признаком толерантности растений к нагрузкам городской среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Бухарина, И.Л. Городские насаждения: экологический аспект / И.Л. Бухарина, А.Н. Журавлева, О.Г. Большова. - Ижевск: Изд-во «Удмуртский университет», 2012. 206 с.
2. Колупаев, Ю.Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Сер. Биология. 2007. Вып. 3(12). С. 6-26.
3. Чиркова, Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. - СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2002. 244 с.
4. Половинкина, Е.О. Окислительный стресс и особенности воздействия слабых стрессоров физической природы на перекисный гомеостаз растительной клетки / Е.О. Половинкина, Ю.В. Синицына. - Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2010. 62 с.
5. Доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Саратовской области в 2015 году». - Саратов, 2016. 244 с.
6. Захаров, В.М. Биотест: Интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов / В.М. Захаров, Д.М. Кларк. - М.: Московское отделение Международного Фонда «Биотест», 1993. 68 с.
7. Плешков, Б.П. Практикум по биохимии растений. - М.: «Колос», 1976. 256 с.
8. Починок, Х.Н. Методы биохимического анализа растений. - Киев: Изд-во «Наукова думка», 1976. 334 с.
9. Зайцев, Т.Н. Математический анализ биологических данных. - М.: Наука, 1991. 268 с.
10. Андреева, В.А. Фермент пероксидазы: участие в защитном механизме растений. - М.: Наука, 1988. 359 с.
11. Николаевский, В.С. Биологические основы газоустойчивости растений. - Новосибирск: Наука, 1979. 280 с.
12. Цегарем, М.П. Субклеточная локализация каталазы в листьях чайного растения / М.П. Цегарем, Г.Н. Прудзе // Субтропические культуры. 1990. № 4. С. 47-51.
13. Воскресенская, О.Л. Эколого-физиологические адаптации туи западной (*Thuja occidentalis* L.) в городских условиях: монография / О.Л. Воскресенская, Е.В. Сарбаева. - Йошкар-Ола: Мар. гос. ун-т., 2006. 130 с.

ROLE OF FERRIFEROUS OXIDASES IN ADAPTATION OF WOODY PLANTS TO FACTORS OF THE URBAN ENVIRONMENT (ON THE EXAMPLE OF SARATOV CITY)

© 2016 Z.A. Simonova, E.I. Tikhomirova, I.S. Shaydenko

Saratov State Technical University named after Gagarin Yu.A.

Seasonal dynamics of activity of ferriferous oxidases (peroxidase and catalase) in leaves of *Betula pendula* and *Populus pyramidalis* growing in the territory of Saratov city is investigated. It is shown that during the vegetative period woody plants try to resist to adverse conditions of the urban environment due to the change of peroxidase activity. At *B. pendula* by the end of the vegetative period activity of this enzyme turns out lowered what demonstrates decrease in adaptation abilities of a plant. At *P. pyramidalis* small increase in peroxidase activity is noted that testifies to their steady character of adaptation to negative factors of the urban environment. It is shown that in comparison with the background territory at the studied trees low catalase activity was noted. In city conditions during the vegetative period catalase activity in leaves of *B. pendula* and *P. pyramidalis* was practically left without change and was characterized by low values. The inhibition of catalase activity is an indicator of lowered adaptation opportunities of trees.

Key words: *peroxidase*, *catalase*, *enzymatic activity*, *adaptation*, *woody plants*, *Betula pendula*, *Populus pyramidalis*, *urban environment*

Zoya Simonova, Candidate of Biology, Associate Professor at the Ecology Department. E-mail: simonovaza@yandex.ru
 Elena Tikhomirova, Doctor of Biology, Professor, Head of the Ecology Department. E-mail: tikhomirova_ei@mail.ru
 Iliya Shaidenko, Student