

УДК 577.152.193

В. С. Більчук, Л. В. Шупранова

Дніпропетровський національний університет

**ВИДОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН АКТИВНОСТІ
ТА ІЗОФЕРМЕНТНОГО СКЛАДУ ПЕРОКСИДАЗИ
РОСЛИН РОДИНИ СКЛАДНОЦВІТИХ
ЗА НЕСПРИЯТЛИВИХ УМОВ СЕРЕДОВИЩА**

Досліджено мінливість множинних молекулярних форм розчинної пероксидази в онтогенезі квітково-декоративних рослин родини айстрових, які ростуть в умовах промислового забруднення м. Дніпропетровськ. Показані видові особливості експресії ген-ензимної системи ферменту під впливом полікомпонентних викидів підприємств різного профілю.

V. S. Bil'chuk, L. V. Shupranova

Dnipropetrovsk National University

**SPECIES-DEPENDENT CHANGES OF ACTIVITY
AND ISOENZYMATIC COMPOSITION OF PEROXIDASE
IN *COMPOSITAE* PLANTS UNDER UNFAVOURABLE CONDITIONS**

Variability of plural molecular forms of a soluble peroxidase in the ontogenesis of flowering ornamental plants of *Compositae* family, growing under conditions of industrial contamination in the city of Dnipropetrovsk, has been studied. The species dependent features of expression of the peroxidase gene-enzymatic system under influence of the multicomponent effluents of different type enterprises are presented.

Вступ

Родина складноцвітих – одна з найбагатших систематичних груп квіткових рослин [13]. Види цієї родини використовуються не тільки як харчові, лікарські, інсектицидні, а і як декоративні, з високими газопоглинальними та пилозатримними властивостями. У той же час глибоких досліджень впливу промислових токсикантів на ріст, розвиток і метаболізм квітково-декоративних рослин відносно мало. Встановлено, що при зростанні в умовах промислових підприємств порушуються фенологічні ритми розвитку квітково-декоративних рослин [11]. Забруднення середовища важкими металами викликає скорочення термінів цвітіння (*Escholtzia californica*, *Impatiens balsamina*, *Calendula officinalis*), знижує біомасу рослин, об'єм коріння, його адсорбувальну активність (*Amaranthus paniculatus*, *Danthis chinensis*, *Calendula officinalis*) [3].

Представники родини мають різну стійкість до токсикантів. Шляхом порівняння витривалості або чутливості понад 200 видів деревно-чагарникових і трав'янистих декоративних рослин у контрольованих умовах поблизу металургійних, хімічних та інших підприємств встановлено, що календула лікарська (*Calendula officinalis*), бархатці пряmostоячі (*Tagetes erectus*) відносяться до стійких видів, а хризантема каринатум (*Chrisantemum carinatum*) – до дуже стійких. Календула лікарська при низькому рівні

забруднення ґрунту (5 ГДК) має досить великий фітоекстракційний потенціал відносно важких металів, а бархатці пряmostоячі – низький [11]. Відмічається, що одним із шляхів пристосування квітково-декоративних рослин до промислового забруднення атмосферного повітря є формування ксероморфної структури листка [1; 4; 5; 8; 10; 13; 14]. Відносно невелика кількість наукових робіт присвячена вивченню водного та мінерального обмінів [1; 5; 8; 10; 14], дихального газообміну [9]. У той же час вивчення механізмів регуляції, за допомогою яких рослини здійснюють адаптивні перебудови метаболічних процесів в умовах антропогенного навантаження, залишаються нез'ясованими. Відомо, що пероксидази є одними з найчутливіших індикаторів найрізноманітніших несприятливих впливів зовнішнього середовища [2; 6]. Тому з'ясування специфічності та особливостей експресії генів пероксидаз залежно від екологічного фону в процесі онтогенезу рослини є вельми актуальним питанням.

Матеріал і методи досліджень

Як об'єкт дослідження використовували вегетативні пагони квітково-декоративних рослин із родини складноцвітих, таких як айстра тонколиста (*Aster teunifolia* L.), бархатці пряmostоячі (*Tagetes erectus*), брахікома іберолиста (*Brachicome iberidifolia* Benth.), геленіум гібридний (*Heieniun hybridum* hort.), календула лікарська (*Calendula officinalis* L.), хризантема кілевата (*Chrisantemum carinatum* Schosb.). Дослідні рослини зростали на майданчиках поблизу ЗАТ “Лакофарбовий завод” (ЛФЗ), ВАТ “Дніпрошина” (ДШ), Дніпропетровський машинобудівний завод (ДМЗ) та території з техногенним навантаженням – ж/м „Тополя” (ЖМТ) (розташований поблизу заводів „Важкі преси”, „Хімічні виробни”, „Полімермаш” та „Буддеталь”). Як умовний контроль обрані рослини, які зростають у Ботанічному саду Дніпропетровського національного університету (БС).

Легкорозчинні білки пагонів виділяли трис-*HCl* буфером, *pH* 7,5 у співвідношенні 1:10. Питому активність (ПА) пероксидази у пагонах визначали спектрофотометричним методом за [3]. Для електрофоретичного розділу ізопероксидаз використовували анодну систему Davis [12]. Активність пероксидаз у гелях знаходили бензидиновим методом [7].

Результати та їх обговорення

У пагонах айстри тонколистої з Ботанічного саду ПА пероксидази має максимальне значення у серпні (табл. 1). Наприкінці вегетації цей показник знижується у 1,5 раза. У літній період (липень) активність пероксидази нижча максимальної утрині. Сезонні зміни ПА пероксидази пагонів айстри, яка росла поблизу ВАТ „Дніпрошина”, показали, що максимальних значень цей показник досягає у вересні, що у 1,5 раза нижче за контроль. На всіх стадіях розвитку пагонів айстри спостерігається зниження активності ферменту порівняно з контролем. Інша картина спостерігається за хронічного впливу полотантів ЖМТ, де відмічено підвищену активність пероксидази у липні та вересні на 13,8 % порівняно з контролем. У серпні цей показник суттєво знижується (у 6,2 раза).

Як показали експериментальні дані, активність пероксидази пагонів бархатців пряmostоячих у липні перевищувала контроль у 2,1–5,8 раза залежно від типу промислових викидів. Максимальну активність ензиму мали рослини, що зростали на території ЛФЗ і ЖМТ. Протягом вегетації на забруднених промисловими викидами територіях питома активність пероксидази в основному знижена або перебувала на рівні контролю (ЖМТ – липень, ДМЗ – серпень). Підвищення або зниження активно-

сті супроводжувалося змінами компонентного складу ферменту пагонів рослин *Tagetes erecta* (табл. 2). Пероксидаза пагонів бархатців, які росли на території Ботанічного саду в середині вегетації (липень), представлена трьома основними компонентами з різною електрофоретичною рухомістю (R_f).

Таблиця 1

Активність пероксидази (ПА, /мг) у пагонах квітково-декоративних рослин родини складноцвітих, що зростають на забруднених територіях

Вид	Район відбору	Липень	Серпень	Вересень
<i>Aster tenuifolia</i> L.	БС	121,9 ± 6,41	383,7 ± 11,41	254,9 ± 0,83
	Тополя	138,7 ± 0,50	61,9 ± 0,12	290,1 ± 0,61
	ШЗ	92,1 ± 0,30	78,2 ± 0,16	167,1 ± 1,15
<i>Tagetes erecta</i> L.	БС	21,3 ± 0,27	78,5 ± 3,59	88,5 ± 4,50
	Тополя	112,0 ± 2,33	79,9 ± 1,38	54,9 ± 0,74
	ЛФЗ	122,9 ± 0,28	66,0 ± 3,05	56,7 ± 1,46
	ШЗ	45,7 ± 0,33	42,1 ± 2,15	34,6 ± 1,76
<i>Brachicome iberdifolia</i> Benth.	ДМЗ	46,5 ± 5,41	40,4 ± 0,59	88,3 ± 4,53
	БС	37,9 ± 0,79	179,0 ± 6,69	212,7 ± 10,61
	Тополя	224,8 ± 0,74	105,8 ± 1,75	72,3 ± 0,81
	ДМЗ	155,9 ± 7,76	40,6 ± 2,06	49,3 ± 1,86
<i>Helenium hybridum</i> hort.	ШЗ	339,0 ± 2,37	107,3 ± 0,68	85,6 ± 0,09
	БС	39,7 ± 1,83	17,7 ± 0,06	161,0 ± 2,78
	Тополя	60,7 ± 2,34	66,2 ± 0,94	41,1 ± 1,20
<i>Chrysanthemum carinatum</i> Schousp.	ЛФЗ	141,6 ± 5,36	99,6 ± 3,11	222,2 ± 8,10
	БС	174,4 ± 0,49	408,7 ± 10,47	465,5 ± 8,04
	Тополя	186,8 ± 6,25	131,2 ± 1,44	95,9 ± 1,17
	ЛФЗ	397,2 ± 18,65	313,6 ± 15,28	199,6 ± 2,25
<i>Calendula officinalis</i> L.	ДМЗ	147,8 ± 4,97	131,1 ± 6,81	130,0 ± 6,28
	БС	90,3 ± 2,17	108,2 ± 0,42	92,6 ± 1,42
	Тополя	107,0 ± 1,82	232,3 ± 2,71	144,7 ± 3,25
	ДМЗ	122,9 ± 0,28	102,2 ± 3,92	73,4 ± 5,26
	ШЗ	65,1 ± 2,89	117,8 ± 0,82	118,9 ± 0,63

Таблиця 2

Ізоферментний склад (значення R_f) однорічних пагонів *Tagetes erecta* L., що зростають у несприятливих умовах техногенного навантаження

№	Липень			Серпень	
	БС	Тополя	ЛФЗ	БС	ШЗ
1	–	–	0,04	–	0,18
2	–	–	0,07	0,25	–
3	–	–	0,17	–	0,41
4	0,20	–	0,20	0,57	0,57
5	–	0,32	–	0,60	–
6	–	0,38	–	0,64	0,64
7	–	0,46	0,45	0,69	0,69
8	0,52	0,51	0,50	0,76	0,76
9	–	0,58	–	–	0,80
10	–	0,63	–	–	0,84
11	–	–	0,67	–	–
12	–	–	0,71	–	–
13	0,74	–	0,74	–	–

Пероксидаза рослин *Tagetes erecta*, що зростали на території ЖМТ, мала шість ізоформ, з яких тільки одна, а саме з R_f 0,50, була притаманна і контрольному зразку. Значні перебудови компонентного складу пероксидази відмічалися і для зразків рослин бархатців, які росли на території ЛФЗ. При цьому виявлено три ізоформи (як у контролі) і шість додаткових зон. В основному це були повільно- і швидкорухомі ізопероксидази. Із повільнорухомих три з R_f 0,04, 0,07 і 0,17 мали значну активність ферменту, а із середньорухомих – з R_f 0,45.

У серпні у період цвітіння спостерігається зовсім інший ізоферментний склад пероксидази, представлений сімома ізоформами зі значеннями R_f в області 0,25–0,76. Ізоферментний склад пагонів бархатців, які росли в умовах техногенного забруднення ВАТ „Дніпрошина” у серпні, представлений вісьмома компонентами. Із них чотири – спільні з пероксидазною системою рослин Ботсаду, у двох із них (R_f 0,57 і 0,69) спостерігалися чіткі відмінності за активністю пероксидази. У складі ензиму з’являються чотири нових компоненти.

Помітні відмінності за активністю пероксидази спостерігалися для дослідних рослин брахікоми іберолистої порівняно з контролем. Максимальну активність ферменту рослини мають у липні, за винятком контрольних зразків. При цьому спостерігалася підвищена активність пероксидази (від трьох до десяти разів) на всіх дослідних майданчиках. У серпні та вересні пероксидазна реакція протікала з меншою швидкістю (у 1,5–2,0 раза) у дослідних зразках порівняно з контролем. Зареєстровані також зміни ізоферментного спектра пероксидази рослин брахікоми на несприятливому екологічному фоні (табл. 3).

Таблиця 3

Ізоферментний склад (значення R_f) пероксидази однорічних пагонів квітково-декоративних рослин, що зростають у несприятливих умовах техногенного навантаження (липень 2006 р.)

№	<i>Brachicome iberdifolia</i> Benth.		<i>Helenium hybridum</i> hort.	
	БС	ДМЗ	БС	ЛФЗ
1	–	0,31	–	0,16
2	0,34	–	–	0,20
3	–	0,40	–	0,24
4	0,42	–	–	0,30
5	–	0,47	–	0,35
6	0,56	0,56	–	0,39
7	–	0,59	–	0,47
8	–	–	–	0,52
9	–	–	0,54	0,54
10	–	–	0,63	–

Тут, як і у випадку бархатців, спектр ізопероксидаз ускладнюється порівняно зі спектрами рослин Ботсаду. Пероксидаза брахікоми іберолистої контрольних зразків представлена трьома середньорухомими компонентами. Хронічна дія поллютантів заводу ДМЗ викликає значні кількісні та якісні зміни компонентного складу ензиму, що відбилося у появі чотирьох нових компонентів з R_f 0,31, 0,40, 0,47 і 0,59. Ізопероксидаза з R_f 0,56 із забрудненої території виявила більшу активність порівняно з контролем. Дія антропогенного забруднення викликала зміни активності та ізоферментного складу пероксидази у пагонах геленіуму гібридного. Протягом двох місяців дослідження встановлено підвищення активності пероксидази в 1,5–6,5 раза. Пероксидаза пагонів геленіуму гібридного, який вирощувався в Ботанічному саду, представ-

лена двома основними компонентами з R_f 0,54 і 0,63. Під впливом техногенного забруднення ЛФЗ компонентний склад ензиму збільшується до дев'яти ізопероксидаз. Причому для обох варіантів спільним був тільки один ізоензим з R_f 0,54, який у дослідного зразка виявив більшу активність.

Для календули лікарської характерні незначні зміни активності пероксидази увесь літній період за дії викидів різних підприємств. У вересні спостерігалась достовірна різниця активності ферменту у пагонах календули порівняно з контролем тільки під впливом забруднювачів ВАТ „Дніпрошина”. Питома активність збільшувалась у 1,4 раза. Підвищення активності ензиму удвічі характерне для рослин хризантеми кілеватої (див. табл. 1), що росли поблизу ЗАТ „Лакофарбовий завод” у липні. За хронічної дії полнотантів ЛФЗ і ДМЗ спостерігали зниження швидкості реакції пероксидази на 60–70 %. Пероксидаза пагонів хризантеми кілеватої (табл. 4), яка росла в умовах Ботанічного саду, представлена у липні (середина вегетації) сімома ізоферментами, серед яких чотири – швидкорухомі.

Адаптація рослин хризантеми до викидів ЗАТ “Лакофарбовий завод” відбувалася за рахунок появи нових компонентів повільно- (R_f 0,02, 0,05) та середньорухомих (R_f 0,38, 0,55, 0,58, 0,60), а також зникнення ізоформ з R_f 0,09, 0,12 і 0,79. У процесі вегетації компонентний склад пероксидази хризантеми ускладнюється й у серпні представлений 13 компонентами, із них п'ять – мінорні (0,02, 0,04, 0,06, 0,51 і 0,65), а шість – основні (0,11, 0,16, 0,57, 0,61, 0,70, 0,75).

Хронічна дія викидів промислового підприємства ДМЗ викликала збіднення ізоферментного складу хризантеми до семи ізопероксидаз проти 13 у контролі. При цьому зникали компоненти з R_f 0,06, 0,11, 0,16, 0,26, 0,36, 0,51 і 0,75, а з'являвся компонент з R_f 0,42. Для хризантем, які росли на промислових майданчиках ЗАТ “Лакофарбовий завод”, пероксидаза представлена дев'ятьма компонентами. Зміни складу пероксидази відносно контролю відбувалися за рахунок повільнорухомих компонентів, основного компонента з R_f 0,55, 0,40, 0,20 і швидкорухомого з R_f 0,70.

Таблиця 4

Ізоферментний склад (значення R_f) однорічних пагонів *Chr. carinatum* Schousp. за умов техногенного навантаження

№	Липень		Серпень		
	БС	ЛФЗ	БС	ДМЗ	ЛФЗ
1	–	0,02	0,02	0,02	0,02
2	–	0,05	0,04	0,04	–
3	0,09	–	0,06	–	–
4	0,12	–	–	–	0,08
5	0,17	0,17	0,11	–	–
6	–	0,38	0,16	–	–
7	–	0,55	–	–	0,21
8	–	0,58	0,26	–	–
9	–	0,60	0,36	–	–
10	0,63	0,63	–	–	0,40
11	0,67	0,67	–	0,42	–
12	0,72	0,72	0,51	–	–
13	0,79	–	0,57	0,57	0,57
14	–	–	0,61	0,61	0,61
15	–	–	0,65	0,65	0,65
16	–	–	0,70	0,70	0,70
17	–	–	0,75	–	–

Таким чином, у роботі продемонстровано значні зміни функціонування пероксидазної системи протягом вегетації квітково-декоративних рослин родини *Compositae*, що зростали на території Ботанічного саду. Полікомпонентні викиди різного роду виробництва (металургійна, хімічна промисловість) викликали як підвищення, так і зниження питомої активності пероксидази в онтогенезі рослин. При дослідженні активності пероксидази квіткових рослин, що перебували в умовах дії моніторингового майданчика „Тополя”, куди досягають викиди чотирьох підприємств, встановлено, що всі рослини, які досліджувалися, за характером відгуку на забруднення можна поділити на три групи.

До першої відноситься календула лікарська, у вегетативних пагонах якої активність пероксидази підвищена на всіх стадіях онтогенезу. Другу групу складають айстра тонколиста, бархатці прямостоячі, брахікома іберолиста та хризантема кілевата, для яких характерне підвищення пероксидазної активності в липні порівняно з контролем та її зниження на наступних стадіях вегетації. До третьої групи належить геленіум гібридний, адаптаційна реакція якого проявляється в активації пероксидазної реакції в липні та серпні з подальшим її гальмуванням у вересні. Розчинна форма пероксидази являє собою сукупність множинних функціонально різних форм, що кодуються власними генами.

У нашій роботі показано, що для кожного з п'яти вивчених видів рослин характерний власний спектр, що різниться за кількістю компонентів та значеннями R_f ізопероксидаз. Треба відзначити, що на ранній стадії розвитку рослин брахікоми, геленіуму та бархатців із території Ботсаду відзначається низька гетерогенність пероксидази (на рівні двох–трьох компонентів). У рослин, що зростають на забруднених промисловими викидами територіях, відмічається значне підвищення гетерогенності ензиму у цей період.

Висновки

Ген-ензимна система пероксидази характеризується певними особливостями експресії в процесі онтогенезу. Причому ці особливості значною мірою залежать від видової належності рослини. Адаптація квітково-декоративних рослин різних представників родини *Compositae* відбувається за рахунок змін активності пероксидази. Під впливом поллютантів питома активність пероксидази значно варіює і визначається не тільки типом забруднення, а й терміном дії токсикантів і видом рослини. Вивчення активності та ізоферментного складу пероксидази в комплексі з іншими показниками може бути ефективним критерієм при дослідженні регуляції експресії генів у процесі адаптації рослин до хронічної дії комплексних викидів промислових підприємств.

Бібліографічні посилання

1. **Більчук В. С.** Особливості накопичення важких металів квітково-декоративними рослинами в умовах промислового міста // Динаміка наукових досліджень. Матер. II Міжнар. наук.-практ. конф. – Д.: Наука і освіта, 2003. – Т. 14. Екологія. – С. 20.
2. **Більчук В. С.** Дослідження впливу техногенного забруднення на активність оксидоредуктаз квітково-декоративних рослин / В. С. Більчук, В. Я. Попов // Україна наукова 2003. Матер. VI Міжнар. наук.-практ. конф. – Д.: Наука і освіта, 2003. – Т. 15. Екологія. – С. 10–11.
3. **Бояркин А. А.** Колориметрическое определение пероксидазы // Биохимия. – 1964. – Т. 16, № 2. – С. 252–254.
4. **Зурнаджі Т. П.** Фенологічні зміни квітково-декоративних рослин в умовах промислового забруднення // Укр. ботан. журн. – 1996. – Т. 53, № 3. – С. 291–292.

5. **Козюкина Ж. Т.** Физиолого-биохимическое обоснование фитодизайна промышленных площадок // Растения и промышленная среда. – Д.: Изд-во ДГУ, 1990. – С. 98.
6. **Коршиков И. И.** Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. – К.: Наукова думка, 1996. – 238 с.
7. **Левитес Е. В.** Генетика изоферментов растений. – Новосибирск: Наука, 1986. – 72 с.
8. **Мишкина Н. И.** Накопление микроэлементов листьями цветочных декоративных растений в условиях загрязнения почв тяжелыми металлами // Проблемы дендрологии, цветоводства, плодородства. Матер. V Междунар. конф. – 1997. – С. 65–70.
9. **Паталах И. И.** Оценка тест-информативности параметров водообмена растений в экологических исследованиях // Вестник Днепропетр. ун-та. Биология. Экология. – Д.: Изд-во ДГУ, 1996. – С. 154–162.
10. **Пельтихина О. И.** Онтогенетическая адаптация однолетников в техногенной среде / О. И. Пельтихина, Т. П. Журнаджи // Промислова ботаніка: стан та перспективи розвитку. – Донецьк: Мультипрес, 1998. – С. 284–285.
11. **Сапоженкова Т. В.** Анатомо-морфологические изменения листьев некоторых цветочно-декоративных растений в условиях промышленного загрязнения / Т. В. Сапоженкова, Л. К. Горб // Растения и промышленная среда. Тез. V Всесоюз. конф. – Д., 1990. – С. 130–131.
12. **Сафонов В. И.** Исследование белков и ферментов растений методом электрофореза в полиакриламидном геле / В. И. Сафонов, М. П. Сафонова // Биологические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – 226 с.
13. **Сікура Й. Й.** Морфологічні особливості плодів родини складноцвітих (*Compositae* Giseke = *Asteraceae*) / Й. Й. Сікура, А. Й. Сікура // Наукові записки Тернопільського пед. ун-ту. Серія: Біологія. – 2002. – № 1 (16). – С. 25–33.
14. **Bessonova V.** Effect of iron and manganese excess on growth and potassium accumulation in organs of *Arctotis stoechaditalia* and *Calendula officinalis* / V. Bessonova, N. Misykina, Z. Gritzaj // Troisieme Conf. Intern. Sur la Biogeochemistry des Elements Tracees. – Paris, 1995. – P. 81.

Надійшла до редколегії 15.02.2007