

УДК 582.477.63:581.211

Г.А. Заїко¹, Н.О. Гавриленко², Ю.В. Лихолат¹, А.М. Стальченко¹

¹Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара

пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010 Україна

²Біосферний заповідник "Асканія-Нова" імені Ф.Е. Фальц-Фейна НААН

вул. Фрунзе, 13, смт Асканія-Нова, Чаплинський р-н, Херсонська обл., 75230 Україна

e-mail: lykholat2006@ukr.net, kuzdra77@rambler.ru

ЕКОЛОГО-БІОХІМІЧНА РЕАКЦІЯ "ЧЕРВОНОКНИЖНИХ" ВИДІВ РОСЛИН НА СТРЕС В УМОВАХ СТЕПУ

Штучні фітоценози, "червонокнижні" трав'янисті, супероксиддисмутаза, малоновий діальдегід, білок

ЕКОЛОГО-БІОХІМІЧНА РЕАКЦІЯ "ЧЕРВОНОКНИЖНИХ" ВИДІВ РОСЛИН НА СТРЕС В УМОВАХ СТЕПУ. Г.А. Заїко, Н.О. Гавриленко, Ю.В. Лихолат, А.М. Стальченко. – Визначено активність фермента супероксиддисмутази, вміст малнового діальдегіду та кількість білку, як показників стійкості до несприятливих факторів зовнішнього середовища у деяких "червонокнижних" видів трав'янистих рослин в степовій зоні України. Рекомендовані найбільш стійкі види для подальшого використання при створенні штучних фітоценозів на техногенних територіях.

ЭКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ "КРАСНОКНИЖНЫХ" ВИДОВ РАСТЕНИЙ НА СТРЕСС В УСЛОВИЯХ СТЕПИ. А.А. Заико, Н.А. Гавриленко, Ю.В. Лихолат, А.Н. Стальченко. – Определены активность фермента супероксиддисмутаза, содержание малнового диальдегида и количество белка, как показателей устойчивости к негативным факторам окружающей среды у некоторых "краснокнижных" видов травянистых растений степной зоны Украины. Рекомендованы наиболее устойчивые виды для использования при создании искусственных фитоценозов на техногенных территориях.

ECOLOGY-BIOCHEMICAL REACTION OF RED BOOK PLANTS TO STRESS IN THE STEPPE CONDITIONS. G.A. Zajiko, N.O. Havrylenko, Yu.V. Lykholat, A.N. Stalchenko. – The activity of enzyme superoxide dismutase, content of malonic dialdehyde and concentration of proteine, as indices of resistance to the unfavorable conditions of environment in some representatives of Red Book grassy plants are defined. The most sustainable species are recommended for use when creating the artificial phytocenosis on the technogenic territories.

Дослідження "червонокнижних" видів трав з декоративними властивостями, зокрема, за зміною їх основних фізіологічних показників, в умовах степового Придніпров'я є важливими для їх збереження в культурі та практичного використання, особливо при створенні штучних фітоценозів у населених пунктах України. Шкідливі компоненти викидів промислових підприємств та автотранспорту, що надходять до рослинних організмів, доповнюють широкий спектр змін, які можна характеризувати як стрес-індуковані (Андреева, 1988). Найбільш небезпечним наслідком їх дії на живий організм можна вважати розвиток окиснювального стресу, обов'язковою умовою виникнення якого є надмірне утворення активних форм кисню (АФК) в клітинах (Кретович, 1974; Бессонова, 2006). В екстремальних умовах важливим механізмом стійкості є активізація багаторівневої фізіолого-біохімічної системи антиоксидантного захисту, до якої входить велика кількість компонентів. Серед них особливе місце займає антиоксидантний фермент – супероксиддисмутаза (Воскресенский, 2011).

Враховуючи, що в доступній літературі для визначення стійкості "червонокнижних" квітниково-декоративних трав в умовах степу показникам прооксидантно-антиоксидантної рівноваги приділяється незначна увага, мета даної роботи – на основі проведених досліджень активності супероксиддисмутази (СОД), вмісту малнового діальдегіду (МДА) та вмісту так званих "стресових" білків у листках

цих рослин виділити найбільш перспективні види для створення стійких штучних фітоценозів в умовах степу.

Матеріали і методи досліджень

Об'єктами дослідження були "червонокнижні" види (Червона книга України, 2009), які зростають в умовах дендропарку "Асканія-Нова": *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. – золотень жовтий (асфоделіна жовта), *Dictamnus albus* L. – ясенець білий, *Glaucium flavum* Crantz – мачок жовтий, *Iris pontica* Zapal. – півники понтичні, *I. sibirica* L. – п. сибірські, *Lunaria rediviva* L. – місячниця оживаюча (лунарія оживаюча), *Ornithogalum boucheanum* (Kunth) Aschers – ряска Буше, *Sternbergia colchiciflora* Waldst. et Kit. – штернбергія пізньоцвіта.

Asphodeline lutea (род. Asphodelaceae): природоохоронний статус виду – неоцінений; наукове значення – східносередземноморський вид на північній межі ареалу, утворює рідкісні рослинні угруповання.

Dictamnus albus (род. Rutaceae): природоохоронний статус виду – рідкісний; наукове значення – південно-середньоевропейський вид на північній та східній межах поширення.

Glaucium flavum (род. Papaveraceae): природоохоронний статус виду – вразливий; наукове значення – європейсько-середземноморський вид на північній межі ареалу.

Iris pontica (род. Iridaceae): природоохоронний статус виду – вразливий; наукове значення – вид на північній межі ареалу.

Iris sibirica (род. Iridaceae): природоохоронний статус виду – вразливий; наукове значення – рідкісний вид на південній межі ареалу.

Lunaria rediviva (род. Brassicaceae): природоохоронний статус виду – неоцінений; наукове значення – гірський вид з ексклавами на рівнині, де має диз'юнктивне поширення.

Ornithogalum boucheanum (род. Liliaceae): природоохоронний статус виду – неоцінений; наукове значення – диз'юнктивноареальний на північній межі поширення, єдиний в Україні представник секції *Myogalum* (Link.) Bak.

Sternbergia colchiciflora (род. Amaryllidaceae): природоохоронний статус виду – вразливий; наукове значення – реліктовий середземноморський вид з диз'юнктивним ареалом на північній його межі.

Dictamnus albus, *Iris pontica*, *I. sibirica* та *Ornithogalum boucheanum* включено також до "Червоної книги Дніпропетровської області" (2010).

Стійкість рослин до умов посухи детермінували за рівнем прооксидантно-антиоксидантних метаболічних процесів. Вміст ТБК-активних продуктів визначали методом, в основу якого покладено вимірювання концентрації забарвленого комплексу, що утворюється в результаті реакції малонового діальдегіду (МДА) з двома молекулами ТБК у кислому середовищі за температури 99–100°C. Кількість МДА у рослинній тканині виражали в нмоль / г наважки * хв за методикою, описаною в роботі Г.А. Заїко (2010) та P.S. Fitzmaurice (2006).

Активність СОД (КФ 1.15.1.11) визначали за ступенем інгібування відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) в присутності нікотинамідаденіндинуклеотіда (НАДН) та феназинметасульфата (ФМС) за методикою Чеварі та Переслегіної, описаною в роботі Г.С. Россихіної (2009). Інтенсивність забарвлення вимірювали при довжині хвилі 540 нм. Активність виражали в умовних одиницях / г наважки.

Кількісне визначення білків проводили за методом Бредфорд в модифікації Н.Н. Третьякова, описаній в роботі Г.С. Россихіної (2009); в його основі лежить неспецифічне зв'язування барвників з білками, тобто здатність білків просто адсорбувати деякі барвники. Кількість білку виражали у мкг на г сухої речовини.

Результати досліджень та їх обговорення

Вплив високотемпературного стресу викликає в рослинах синтез специфічних, стресових білків, що грає важливу роль у надбанні рослиною стійкості до впливу несприятливого температурного фактору. До цього часу, крім ряду ферментів, чуттєвих

до дії високотемпературного стресу, що змінюють свою активність і характеристики під час нього, виділено декілька груп білків високотемпературного стресу зі специфічними функціями.

Установлено, що досліджувані види трав відрізнялись між собою, перш за все, за вмістом білку (табл. 1). Найбільш високим він був у *Dictamnus albus*, найменшим – у *Asphodeline lutea*, що говорить про індивідуальні особливості рослин та пристосувальні ознаки до конкретних умов зовнішнього середовища.

Таблиця 1. Відмінності між кількістю білку в досліджуваних зразках рослин, мкг/г сухої речовини

№	Вид	$X \pm m_x$	t
1	<i>Asphodeline lutea</i>	0,562±0,007	400,40
2	<i>Dictamnus albus</i>	1,222±0,005	191,90
3	<i>Glaucium flavum</i>	0,835±0,011	250,70
4	<i>Iris pontica</i>	0,674±0,011	301,40
5	<i>Iris sibirica</i>	1,042±0,006	257,41
6	<i>Lunaria rediviva</i>	0,631±0,023	176,80
7	<i>Ornithogalum boucheanum</i>	0,726±0,009	306,50
8	<i>Sternbergia colchiciflora</i>	1,679±0,009	–

Примітка (тут і далі): X – середнє арифметичне вибірки; m_x – похибка середнього арифметичного вибірки; t – критерій Ст'юдента.

Малоновий діальдегід – альдегід з формулою $CH_2(CHO)_2$. Виникає в організмі при деградації поліненасичених жирів активними формами кисню, служить маркером перикисного окислення жирів (у тому числі і при дії випромінювання) і оксидативного стресу (Fitzmaurice, 2006).

За оцінкою вмісту малонового діальдегіду рослини, що зростали на досліджуваній території, зазнавали інтенсивності впливу стресу в залежності від індивідуальних особливостей (табл. 2). Так, частина досліджуваних видів мали низький вміст малонового діальдегіду (*Lunaria rediviva*, *Iris pontica*), інша – високий (*Dictamnus albus*, *Iris sibirica*, *Sternbergia colchiciflora* та *Asphodeline lutea*), решта – середній.

Таблиця 2. Відмінності між вмістом малонового діальдегіду в досліджуваних зразках рослин, нм МДА/1 г сирової маси

№	Вид	$X \pm m_x$	T
1	<i>Asphodeline lutea</i>	39,37±0,19	226,06
2	<i>Dictamnus albus</i>	45,22±0,15	61,71
3	<i>Glaucium flavum</i>	30,33±0,27	104,10
4	<i>Iris pontica</i>	19,26±0,09	286,12
5	<i>Iris sibirica</i>	39,32±0,17	12,61
6	<i>Lunaria rediviva</i>	24,42±0,05	221,60
7	<i>Ornithogalum boucheanum</i>	35,22±0,18	61,90
8	<i>Sternbergia colchiciflora</i>	40,35±0,31	–

Супероксиддисмутаза є єдиним серед відомих антиоксидантних ферментів, який безпосередньо забезпечує обрив ланцюгів киснезалежних вільно радикальних реакцій у клітинах аеробних організмів. Вона здійснює рекомбінацію радикалів кисню з утворенням пероксиду водню та триплетного кисню (Fridovich, 1981).

Відмінність реакції досліджуваних рослин на стрес-фактори полягала в активації ферментів, зокрема СОД (табл. 3). За здатністю підтримувати прооксидантно-антиоксидантну рівновагу їх можна поділити на 3 групи:

1 група – зниження активності СОД спостерігалось у *Glaucium flavum* та *Iris pontica*;

2 група – середні показники активності СОД – у *Ornithogalum boucheanum* і *Lunaria rediviva*;

3 група – найвищі показники активності СОД – у *Asphodeline lutea*, *Dictamnus albus*, *Iris sibirica*, *Sternbergia colchiciflora*.

Таблиця 3. Відмінності між активністю супероксиддисмутази в досліджуваних зразках рослин, у.о./1 г сирої маси*хв.

№	Вид	$X \pm m_x$	T
1	<i>Asphodeline lutea</i>	51,47±0,15	135,28
2	<i>Dictamnus albus</i>	42,19±0,06	307,35
3	<i>Glaucium flavum</i>	28,73±0,52	238,35
4	<i>Iris pontica</i>	30,44±0,13	464,71
5	<i>Iris sibirica</i>	55,37±0,10	82,53
6	<i>Lunaria rediviva</i>	35,43±0,13	380,12
7	<i>Ornithogalum boucheanum</i>	32,18±0,13	433,35
8	<i>Sternbergia colchiciflora</i>	60,52±0,24	—

Таким чином, СОД належить важлива фізіологічна роль у регуляції вільнорадикальних процесів клітинного метаболізму. Це підтверджують дані про гальмування СОД перекисного окиснення ліпідів у нативних мембранах мітохондрій, мікросом та лізосом, а також у реконструйованій мікросомальній системі. Очевидно, що супероксиддисмутаза (разом з іншими компонентами антиоксидантної системи) та ПОЛ забезпечують взаємодоповнюючу регуляцію вільнорадикального окиснення, спрямовану до стабілізації мембранних структур клітини.

Висновки

Asphodeline lutea, *Dictamnus albus*, *Iris sibirica* та *Sternbergia colchiciflora* відзначаються високим рівнем активності СОД порівняно з іншими видами. У них спостерігається пряма залежність між вмістом малонового діальдегіду і активністю СОД, що свідчить про нормальну реакцію рослин на стрес і здатність йому протидіяти шляхом активації ферментів антиоксидантного захисту, зокрема СОД, що призводить до інтенсифікації кисневої фази дихання та підвищення концентрації білку за несприятливих температур і, як наслідок, підвищення оводненості протоплазми і зниження зневоднення клітин, що є проявом фізіологічних процесів адаптації.

Андреева В. А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений / В. А. Андреева. – М. : Наука, 1988. – 128 с.

Бессонова В. П. Практикум з фізіології рослин / В. П. Бессонова. – Дніпропетровськ : РВВ ДДАУ, 2006. – 316 с.

Воскресенский В. С. Экологические особенности древесных растений в урбанизированной среде : автореф. дис... канд. биол. наук : спец. 03.02.08 "Экология" / В. С. Воскресенский. – Йошкар-Ола, 2011. – 23 с.

Зайко Г. А. Фізіологічні особливості стійкості злакових трав в умовах міського середовища / Г. А. Зайко, Ю. В. Лихолат, Г. С. Россихіна // Питання степового лісознавства та лісової рекультивції земель. – 2010. – Вип. 39. – С. 129–135.

Кретович В. Л. Введение в энзимологию / В. Л. Кретович. – М. : Наука, 1974. – 322 с.

Россихіна Г. С. Активність антиоксидантних ферментів в проростках газонотворюючих трав Степового Придніпров'я за дії кадмію / Г. С. Россихіна, О. М. Вінниченко, Ю. В. Лихолат, П. П. Яворовський, О. І. Серга, І. П. Григорюк // Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія "Біологія, біотехнологія, хімія, екологія". – 2009. – Вип. 134, ч. 3. – С. 199–208.

Червона книга Дніпропетровської області. Рослинний світ / [Текст] Під редакцією А. П. Травлєєва. – Дніпропетровськ, 2010. – 500 с.

Червона книга України. Рослинний світ / [під заг. редакцією чл.-кор. НАН України Я.П. Дідуха]. – К. : Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.

Fitzmaurice P. S. Levels of 4-hydroxynonenal and malondialdehyde are increased in brain of human chronic users of methamphetamine / P. S. Fitzmaurice, J. Tong, M. Yazdanpanah, P. P. Liu, K. S. Kalasinsky, S. J. Kish // J. Pharmacol. – 2006, November. – Exp. Ther. 319 (2). – P. 703–709.

Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutase / I. Fridovich // Oxygen living process: Interdiscip. Approach New York, e.a. – 1981. – Vol. 43. – P. 250–272.

Надійшла 29.04.2013 р.

Рекомендує до друку
А.Ф. Рубцов