

УДК 582.711(477.63)

О.В. Чернікова, І.М. Лисенко

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010 Україна
e-mail: saracin182@mail.ru

РОЛЬ ОКСИДОРЕДУКТАЗ У ФОРМУВАННІ СТІЙКОСТІ РОСЛИН-ІНТРОДУЦЕНТІВ

Рослини-інтродуценти, таволги, ферментативна активність, оксидоредуктази, стійкість

РОЛЬ ОКСИДОРЕДУКТАЗ У ФОРМУВАННІ СТІЙКОСТІ РОСЛИН-ІНТРОДУЦЕНТІВ. О.В. Чернікова, І.М. Лисенко. – Проведені дослідження ферментативної активності рослин роду *Spiraea* L. в умовах Степового Придніпров'я. Виявлено видову специфічність активності оксидоредуктаз (каталази, пероксидази, поліфенолоксидази). Визначено їх роль у формуванні стійкості рослин-інтродуцентів до нових умов зростання.

РОЛЬ ОКСИДОРЕДУКТАЗ В ФОРМИРОВАННІ УСТОЙЧИВОСТІ РАСТЕНИЙ-ИНТРОДУЦЕНТОВ. О.В. Черникова, И.М. Лысенко. – Проведены исследования ферментативной активности растений рода *Spiraea* L. в условиях Степного Приднепровья. Выявлена видовая специфичность активности оксидоредуктаз (каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы). Определена их роль в формировании устойчивости растений-интродуцентов в новых условиях произрастания.

THE ROLE OF OXIDOREDUCTASES IN FORMING OF INTRODUCED PLANT RESISTANCE. O.V. Chernikova, I.N. Lysenko. – The researchers of enzymatic activity of *Spiraea* L. genus of plants in the Steppe Prydniprov'ye conditions are carried out. The species specificity of oxidoreductase activity (catalase, peroxidase, polyphenol oxidase) is revealed. Its role in forming of introduced plant resistance under new conditions of growth is determined.

Визначення активності деяких оксидоредуктаз показало їх неоднозначну роль у процесі дихання. Неприятливі фактори оточуючого середовища призводять у рослинах до "окислювального стресу", накопичення H_2O_2 у клітинах. За даними І.О. Зайцевої та Л.Г. Долгової (2010), токсичність пероксиду водню визначається тим, що H_2O_2 є слабким окислювачем у біологічних структурах, але він інактивує деякі ферменти в циклі Кальвіна, може реагувати з кетокислотами з виділенням CO_2 . Більша токсичність H_2O_2 спричиняється гідроксильним радикалом OH , який утворюється під час реакції Fe^{2+} або Cu^{2+} з H_2O_2 і до якого дуже уразливими є мембранні білки, ліпіди, ДНК.

Рослини для видалення H_2O_2 містять специфічні ферменти, одним із яких є каталаза, що бере участь у процесах дихання і входить до складу антиоксидантної системи. Суть каталітичної дії ферменту полягає в розкладанні перекису водню з виділенням молекулярного кисню. Реакція за участю каталази потребує двох молекул перекису водню, одна з яких діє як донор, а друга як акцептор електронів (Долгова, Чернікова, 2006). Деякі автори показники активності каталази розглядають певною мірою як індикатор функціонального стану рослин і реакцію на фактори довкілля (Пюрко та ін., 2001; Чернікова, 2005; Зайцева, Долгова, 2006). За своєю хімічною природою каталаза відноситься до складних ферментів, які складаються з білкового компоненту та активної простетичної групи. Активна група каталази однакова з активними групами пероксидаз і складається з чотирьох пірольних кілець, зв'язаних між собою залізом, тобто є геміном.

Матеріал і методи досліджень

Для визначення рівня пристосованості рослин роду *Spiraea* L. до умов Степового Придніпров'я обрано 10 видів, які представляють різні регіони природного ареалу роду: *Spiraea x vanhouttei* (Briot) Zab. (Японія, Китай), *S. media* Schmidt. (від Південно-Східної

Європи до Північно-Східної Азії), *S. nipponica* Maxim. (Японія), *S. chinensis* Maxim. (Східний Китай), *S. salicifolia* L. (від Південно-Східної Європи до Північно-Східної Азії та Японії), *S. lasiocarpa* Kar. et. Kir. (Середня Азія), *S. henryi* Hemsl (Західний та Центральний Китай), *S. canescens* D. Don (Гімалаї), *S. blumei* G. Don (Японія), *S. crenata* L. (Південно-Східна Європа до Кавказу, Алтай) (Бонюк, 2008). Дослідження проводилися на базі колекції таволг Ботанічного саду Дніпропетровського національного університету ім. О. Гончара. За винятком *S. crenata* та *S. hypericifolia*, дослідні види є інтродуцентами.

Активність каталази визначали газометричним методом, пероксидази – фотоколориметрично з використанням субстрату гваяколу, поліфенолоксидази – об'ємним методом з використанням субстрату пірокатехіну (Бессонова, 2006).

Результати досліджень та їх обговорення

Із десяти досліджуваних видів роду *Spiraea* найбільш високу каталазну активність за вегетаційний сезон відзначено для *S. vanhouttei*, *S. canescens*, *S. salicifolia*, *S. chinensis* (табл. 1).

Таблиця 1. Активність каталази в листках представників роду *Spiraea*, мг O_2 /г/хв.

Вид	Фаза сезонного розвитку рослин		
	активний ріст	вторинний ріст	початок фізіологічного спокою
<i>S. henryi</i>	12,33±0,42	10,32±0,40	7,90±0,21
<i>S. chinensis</i>	9,53±0,53	13,05±0,31	10,67±0,49
<i>S. media</i>	10,58±0,91	9,16±0,23	8,93±0,06
<i>S. nipponica</i>	9,21±0,76	9,41±0,58	8,77±0,68
<i>S. vanhouttei</i>	9,31±0,09	10,73±0,15	12,51±0,18
<i>S. lasiocarpa</i>	14,70±0,65	15,36±0,56	7,96±0,76
<i>S. canescens</i>	16,49±0,78	14,67±0,25	11,56±0,66
<i>S. blumei</i>	10,36±0,16	8,67±0,61	9,17±0,45
<i>S. crenata</i>	8,64±0,31	9,56±0,76	8,62±0,33
<i>S. salicifolia</i>	15,45±0,76	13,78±0,87	11,89±0,25

Щодо динаміки каталазної активності слід відмітити, що у половини видів таволг активність знижується в фазі вторинного росту і майже у всіх видів (крім *S. blumei*, *S. vanhouttei*) продовжує знижуватись у фазі фізіологічного спокою рослин, що ми пов'язуємо з гідротермічними умовами періоду досліджень. Порівняння активності каталази в листках з інтенсивністю дихання демонструє схожість спрямованості процесів у несприятливих гідротермічних умовах вегетаційного сезону, що підтверджує участь ферменту в процесі дихання.

Пероксидаза є неспецифічним універсальним ферментом з широким спектром дії. Вона бере участь в окислювально-відновлювальних реакціях фотосинтезу, в процесах дихання, у метаболізмі білків і регулюванні процесів росту (Долгова, 2001). Пероксидаза – фермент термостабільний. У рослин, стійких до низьких температур, активність пероксидази підвищується (Зайцева, 2011). Деякі дослідники (Капустян та ін., 1999; Кучеренко, Капустян, 2004) рекомендують використовувати показники активності пероксидази як маркер зимостійкості рослин. Усі наведені відомості вказують на значну функціональну роль пероксидази в життєдіяльності рослин в екстремальних умовах, що дає підстави назвати цей фермент "аварійним" (Приседський, 2001).

Пероксидаза пов'язана з цілим рядом метаболічних перетворень, які відбуваються в клітинах, при цьому має широкий спектр дії в межах pH від 3 до 14. Фермент активується, в першу чергу, під час стресів, змін та порушень метаболізму рослин. Під час дихання кожний етап цього процесу відбувається за участі декількох ферментів, пов'язаних близькістю функцій. З еволюційної точки зору доцільність присутності в клітині системи ферментів, що виконують одну й ту саму або подібну хімічну реакцію, забезпечує надійність проходження дихального шляху. Ще на початку XX століття В.І. Палладін сформулював теорію, згідно з якою поліфеноли відіграють важливу роль проміжних каталізаторів ди-

хання в рослинному організмі. Окислення поліфенолів та перенос ними кисню на інші хімічні сполуки відбувається за участю пероксидази.

Вивчення активності пероксидази в листках таволг показало, що досліджувані види відрізняються між собою за цим показником. Найнижча пероксидазна активність упродовж усього вегетаційного періоду притаманна *S. chinensis* (2,09–8,97 мкмоль) і *S. blumei* (9,63–12,63 мкмоль), що характеризує низький рівень окисних процесів, які розвиваються під час дії стресових факторів. Невисокі значення активності має також *S. vanhouttei* (10,86–18,90 мкмоль).

Середні значення активності відзначаються у двох європейських видів—*S. media* (6,55–24,10 мкмоль) та *S. crenata* (12,80–20,28 мкмоль), які природно зростають у степовій і лісостеповій зонах (табл. 2).

Найбільш високу активність пероксидази (35,42–51,77 мкмоль) має *S. salicifolia*, яка походить з обширного євразійського ареалу і зростає у лісовій зоні. Високі значення пероксидазної активності, які відображують стресовий стан рослин, мають також *S. lasiocarpa* (26,92–38,82 мкмоль) і *S. nipponica* (23,71–41,21 мкмоль), які походять з Середньої Азії і Японії. Підвищені значення пероксидазної активності відмічені у таволг із Східного Китаю і Гімалаїв (*S. henryi*, *S. canescens*).

Таблиця 2. Активність пероксидази в листках таволг, мкмоль гваякола окисн. за 1 хв./1 г.

Вид	Фаза сезонного розвитку рослин		
	активний ріст	вторинний ріст	фізіологічний спокій
<i>S. henryi</i>	29,43±0,36	28,42±0,15	30,13±0,20
<i>S. chinensis</i>	8,97±0,20	2,09±0,21	5,20±0,24
<i>S. media</i>	6,55±0,24	19,51±0,15	24,10±0,36
<i>S. nipponica</i>	27,08±0,72	41,21±0,16	23,71±0,27
<i>S. vanhouttei</i>	12,75±0,33	10,86±0,15	18,90±0,31
<i>S. lasiocarpa</i>	26,92±0,46	33,13±0,29	38,82±0,24
<i>S. canescens</i>	19,09±0,53	36,98±0,26	31,71±0,52
<i>S. blumei</i>	11,06±0,28	9,63±0,12	12,63±0,23
<i>S. crenata</i>	12,80±0,17	20,28±0,19	18,99±0,23
<i>S. salicifolia</i>	42,81±0,82	51,77±0,64	35,42±0,26

Вивчення видових особливостей пероксидазної активності показало значення цього показника як індикаторного, який відображує стан окисних процесів. Визначення кореляції між активністю пероксидази і процесами дихання встановило позитивний зв'язок у фазі фізіологічного спокою ($r = +0,87$).

Дослідження поліфенолоксидазної активності у листках представників роду *Spiraea* (табл. 3) виявило відносно високу активність, характерну для всіх досліджуваних таволг.

Таблиця 3. Активність поліфенолоксидази в листках таволг, мкмоль пірокатехіну окисн. 1 хв./1 г.

Вид рослини	Фаза сезонного розвитку рослин		
	активний ріст	вторинний ріст	фізіологічний спокій
<i>S. henryi</i>	92,92±5,71	101,46±0,42	78,65±0,75
<i>S. chinensis</i>	121,67±3,76	78,85±0,55	91,98±1,10
<i>S. media</i>	24,48±0,42	32,08±0,55	27,71±0,65
<i>S. nipponica</i>	79,17±2,40	94,79±0,91	93,85±0,91
<i>S. vanhouttei</i>	103,44±8,59	88,65±0,65	77,40±0,75
<i>S. lasiocarpa</i>	119,06±5,09	120,73±1,27	124,58±0,75
<i>S. canescens</i>	82,19±4,38	64,48±0,42	74,58±0,75
<i>S. blumei</i>	41,15±0,45	32,40±0,91	32,60±0,21
<i>S. crenata</i>	70,94±1,65	51,15±0,91	56,98±0,75
<i>S. salicifolia</i>	107,29±5,26	104,69±1,30	118,85±0,91

Найбільш високі значення поліфенолоксидазної активності мають *S. lasiocarpa*,

S. salicifolia (у середньому 121,46 і 110,28 мкмоль), а також *S. henryi*, *S. chinensis* (у середньому 91,01 і 97,50 мкмоль). Частина досліджуваних видів має низькі показники активності ферменту – *S. media*, *S. blumei*, *S. crenata* (у середньому від 28,09 до 59,69 мкмоль відповідно).

За динамікою активності поліфенолоксидази досліджувані види рослин поділяються на групи: у першій – активність знижується в фазі вторинного росту з наступним підвищенням її в фазі фізіологічного спокою (*S. chinensis*, *S. blumei*, *S. crenata* та ін.). Тобто, у рослин цієї групи найбільш високі показники активності ферменту зафіксовані за несприятливих гідротермічних умов. У другій – відбувається послідовне підвищення активності ферменту від початку фази активного росту до фази вторинного росту (*S. media*, *S. nipponica*, *S. henryi*), а потім відбувається її поступове зниження в фазі фізіологічного спокою. Отже, найбільш високі показники ферменту за весь вегетаційний сезон досліджень зафіксовані за несприятливих гідротермічних умов.

Визначення кореляції між активністю поліфенолоксидази й інтенсивністю дихання показало досить міцний негативний зв'язок між ними ($r = -0,71$), що свідчить про невелику участь цього окислювально-відновлюваного ферменту в процесах дихання і спрямованість його активності на окислення фенольних сполук.

Висновки

Нашими дослідженнями доведено, що рослинам роду *Spiraea* притаманна видова специфічність активності оксидоредуктаз.

Виявлено, що висока ферментативна активність, в першу чергу, каталази та пероксидази свідчить про стійкість рослин-інтродуцентів до гідротермічних умов Степового Придніпров'я.

З'ясовано, що підвищення активності пероксидази, як аварійного ферменту, спостерігається у фазах активного росту та фізіологічного спокою, що співпадає зі складними погодними умовами (двома піками посухи та високою температурою повітря) у рік проведення досліджень.

- Бонюк З. Г. Таволги (*Spiraea* L.) : монографія / З. Г. Бонюк. – К. : ВПЦ Київський університет, 2008. – 248 с.
- Бессонова В. П. Практикум з фізіології рослин / В. П. Бессонова – Дніпропетровськ : РВВ ДДАУ, 2006. – 316 с.
- Долгова Л. Г. Ферментативная активность и микробиологические процессы в эдафотопях техногенных территорий / Л. Г. Долгова // Екологія та ноосферологія. – 2001. – Т. 8, № 4. – С. 18–23.
- Долгова Л. Г. Вплив промислового забруднення на процес дихання та ферментативну активність рослин роду *Spiraea* L. / Л. Г. Долгова, О. В. Чернікова // Алелопатія та сучасна біологія : матеріали Міжнар. наук. конф., присвяченої 80-річчю з дня народження академіка Андрія Михайловича Гродзинського. – К., 2006. – С. 202–206.
- Зайцева І. О. Активність оксидоредуктаз деревних екзотів, інтродукованих у степову зону / І. О. Зайцева, Л. Г. Долгова // Матеріали XII з'їзду Укр. ботан. т-ва. – Одеса, 2006. – С. 309.
- Зайцева І. О. Фізіолого-біохімічні основи інтродукції деревних рослин у Степовому Придніпров'ї : монографія / І. О. Зайцева, Л. Г. Долгова. – Дніпропетровськ : Вид-во Дніпропетр. нац. ун-ту, 2010. – 388 с.
- Зайцева І. О. Активність окислювальних процесів інтродукованих рослин за дії низьких загартовувальних температур / І. О. Зайцева // Вісник ДНУ. Серія Біологія. Екологія. – 2011. – Вип. 19, т. 2. – С. 45–55.
- Капустян А. В. Вплив низькотемпературного стресу на активність пероксидази проростків пшениці / А. В. Капустян, В. П. Кучеренко, М. М. Мусієнко // Вісник Київ. нац. ун-ту ім. Т. Шевченка. – 1999. – Вип. 29. – С. 25–29.
- Кучеренко В. П. Фермент пероксидаза і зимостійкість рослин / В. П. Кучеренко, А. В. Капустян. – К. : Укр. фітосоціологічний центр, 2004. – 116 с.

- Приседський Ю. Г. Зміни активності пероксидази та поліфенолоксидази в листках деревних та чагарникових рослин за умов забруднення повітря сполуками фтору, сірки та азоту / Ю. Г. Приседський // Екологія кризових регіонів України : тези допов. Міжнар. конф. – Дніпропетровськ : ДНУ, 2001. – С. 23–26.
- Пюрко О. Е. Каталазна активність як індикатор функціонального стану галофітів Приазов'я / О. Е. Пюрко, Е. С. Христова, Е. О. Козаков // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя : ЗДУ, 2001. – Вип 6, № 2 – С. 47–50.
- Чернікова О. В. Каталазна активність у листках рослин роду *Spiraea* L. / О. В. Чернікова // Екологічні дослідження у промислових регіонах України : Всеукр. наук.-практ. конф. – Дніпропетровськ, 2005. – С. 80–81.

Надійшла 03.05.2013 р.

Рекомендує до друку
Н.О. Гавриленко