

УДК 581:502

В. С. Воскресенский, О. Л. Воскресенская**ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ У ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ**

Спектр проявления функциональной поливариантности древесных растений характеризуется изменением работы окислительно-восстановительных ферментов, при этом в условиях загрязнения городской среды уровень активности антиоксидантных ферментов носит специфический для каждого вида характер. Под влиянием негативных воздействий среды происходит активирование таких окислительно-восстановительных ферментов, как пероксидаза и полифенолоксидаза и снижение активности каталазы у всех изученных древесных растений, что говорит о большом разнообразии ферментативных систем растительных организмов, активно работающих в условиях антропогенного загрязнения.

Ключевые слова: *древесные растения, урбоэкология, антиоксидантная система, пероксидаза, каталаза, полифенолоксидаза, антропогенное загрязнение.*

Введение. Древесные растения широко используются в озеленении городов и являются наиболее чувствительными к изменению различных факторов среды и загрязнению воздуха [1, 2]. Нарушение их деятельности может быть обусловлено изменениями важнейших физиологических процессов фотосинтеза, дыхания, водного режима, минерального питания, устойчивости растений [3, 4]. В последние годы все более популярной становится гипотеза, согласно которой адаптация растений к действию стрессоров различной природы в значительной степени зависит как от функционирования антиоксидантных ферментов (пероксидазы, каталазы, СОД), так и от накопления в клетках низкомолекулярных антиоксидантов [5]. В ряде работ показано, что изменения активности антиоксидантных систем наблюдается в ответ на действие неблагоприятных факторов среды, таких как повышение концентрации тяжелых металлов в среде [6, 7] и загрязнение атмосферного воздуха [8, 9]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению влияния техногенного стресса на функционирование антиоксидантной системы, до сих пор многие аспекты его влияния не ясны.

Проблема загрязнения воздуха в городах значительно обострилась в последнее десятилетие в результате интенсивного развития промышленности, энергетики и транспорта. Вредные вещества, попадающие в атмосферу от антропогенных источников, оседают на поверхности почвы, домов, растений, вымываются атмосферными осадками, переносятся на значительные расстояния ветром. В «Государственном докладе о состоянии окружающей природной среды Республики Марий Эл» отмечено, что на протяжении последних десяти лет в г. Йошкар-Оле прослеживается устойчивая тенденция увеличения доли выбросов от автотранспорта от 70 до 85 % в общей доле

загрязнения воздушного бассейна. Из более чем 200 загрязнителей атмосферного воздуха, на которые установлены нормы предельно допустимых концентраций, в атмосфере городов России имеется 5–6 веществ, которые определяют основной вклад в создание высокого уровня загрязнения. Из анализа наблюдений за загрязнением атмосферы г. Йошкар-Олы определен приоритетный перечень основных загрязняющих веществ: 1) твердые частицы (пыль, зола, сажа), 2) оксиды серы, 3) оксиды азота, 4) оксиды углерода [10].

Целью работы явилось выявление уровня активности компонентов окислительно-восстановительной системы древесных растений в условиях городской среды и возможность использования полученных показателей в качестве неспецифических индикаторов функционального состояния растительных организмов.

Объекты и методы. Объектами исследования были средневозрастные генеративные древесные растения: сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.); береза повислая (*Betula pendula* Roth.); липа сердцевидная (*Tilia cordata* Mill.). Растения произрастали на территории г. Йошкар-Олы с разной степенью антропогенного загрязнения: 1) условно чистое местообитание (*лесопарковая зона*) – ООПТ «Сосновая роща»; 2) среднезагрязненный район (*селитебная зона*) – ул. Осипенко; 3) загрязненный район (*промышленная зона*) – ОАО «Марийский машиностроительный завод».

О состоянии урбанизированной среды судили по составу атмосферного воздуха, в пробах которого определяли концентрацию пыли, диоксидов азота и серы, оксида углерода [10]. Активность окислительно-восстановительных ферментов общей пероксидазы (КФ 1.11.1.7) и полифенолоксидазы (КФ 1.14.18.1) определяли спектрофотометрическим методом по А.Н. Бояркину, каталазы (КФ 1.11.1.6) – газометрическим методом [11]. Экспериментальный материал был обработан статистически, обработку данных проводили с помощью программы «STATISTICA».

Результаты и их обсуждение. В ходе нашей работы изучалась активность двух железосодержащих оксидаз (пероксидазы, каталазы) и медьсодержащей оксидазы (полифенолоксидазы), являющихся одними из наиболее чувствительных ферментов при воздействии на растения неблагоприятных факторов среды. Пероксидазы – обширная группа ферментов, катализирующих реакции окисления органического и неорганического субстрата с использованием пероксида водорода или органических пероксидов в качестве акцепторов электронов. Пероксидаза (КФ 1.11.1.7) – гем-содержащий белок, участвующий в утилизации пероксида водорода, катализирующий H_2O_2 -зависимое окисление широкого ряда субстратов. К важным функциям пероксидаз относится участие их в защите растения-хозяина от патогена, окисления фенолов до хинонов, а также образование супероксиданиона и пероксида водорода (оксидазная функция). Это, по-видимому, обеспечивает тончайшую самонастройку метаболизма в ходе онтогенеза и имеет особую значимость для растения в обеспечении быстрой приспособленности к постоянно меняющимся условиям внешней среды [4, 7].

Результаты работы по изучению активности пероксидазы в листьях (хвое) древесных растений, произраставших в условиях г. Йошкар-Олы (рис. 1), показали, что хвоя *P. sylvestris* характеризовалась достаточно высокими значениями активности данного фермента по сравнению с листьями *B. pendula* и *T. cordata*. Так, активность пероксидазы в хвое *P. sylvestris* была в 1,5 раза выше, чем в листьях *B. pendula* и почти в 3 раза выше, чем в ассимиляционных органах *T. cordata*.

Сравнивая районы г. Йошкар-Олы с различной интенсивностью загрязнения, следует отметить, что в хвое *P. sylvestris* наблюдается увеличение активности пероксидазы, начиная от лесопарковой зоны к промышленной зоне. В листьях *B. pendula* и

T. cordata также наиболее высокая активность пероксидазы отмечена в промышленной зоне города. Из всех исследуемых видов *P. sylvestris*, *B. pendula*, *T. cordata* в различных функциональных зонах г. Йошкар-Олы самая низкая ферментативная активность характерна для растений лесопарковой зоны города ($p < 0,001$).

Возможно, что на изменение активности пероксидазы оказали влияние загрязнители атмосферы. Под влиянием токсичных газов даже при невидимых повреждениях листьев происходит изменение активности ферментов. В.С. Николаевским [12] показано, что нарушения ферментативных систем более значимы у неустойчивых видов (к ним относится береза повислая), чем у устойчивых (клен ясенелистный) видов. Механизм токсического действия кислых газов на растения заключается в неспецифическом нарушении деятельности многих ферментов в клетках. В работах других исследователей [13] также показано, что промышленные кислые газы (как чистые, так и их смеси) вызывают достоверную активацию пероксидазы, причем смеси – более значительную, чем чистые газы. По мнению авторов, по изменению активности пероксидазы можно картировать зоны разного поражения древесных насаждений и, следовательно, определить долговременное действие различных уровней загрязнения воздуха промышленными токсикантами.

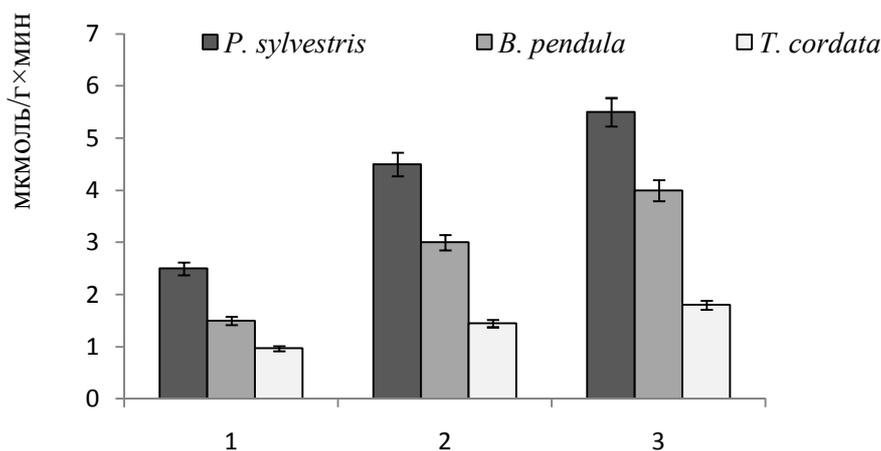


Рис. 1. Изменение активности пероксидазы в листьях (хвое) древесных растений: 1 – лесопарковая зона; 2 – селитебная зона; 3 – промышленная зона

Важная роль в обмене веществ отводится другому железосодержащему ферменту – каталазе (КФ 1.11.1.6), которая широко распространена в растениях. Активность каталазы связана в основном с митохондриями, цитоплазмой и пероксисомами. В окисленном состоянии каталаза может работать как пероксидаза, катализируя окисление спиртов или альдегидов, т.е. каталаза также проявляет умеренную пероксидазную активность. Нами была рассмотрена динамика изменения активности каталазы у древесных растений во времени. Как видно из рис. 2, при пятиминутной экспозиции в хвое *P. sylvestris* происходило постепенное увеличение активности фермента и к концу наблюдений (5 минут) активность каталазы была равна 7,3 мкмоль O_2 /г мин. Это были самые низкие значения по сравнению с другими исследуемыми видами. В среднем за каждую минуту наблюдений происходило увеличение ферментативной активности на 1,2 мкмоль O_2 /г мин и к концу эксперимента отмечалась тенденция выхода на плато.

В листьях *B. pendula* активность каталазы постепенно возрастала и к концу пятиминутной экспозиции составила 14,8 мкмоль O_2 /г мин. В среднем скорость работы фермента, начиная с 1 до 5 минут, изменялась следующим образом:

4,8→4,2→3,7→3,3→2,9. Таким образом, происходило постепенное снижение активности работы каталазы, что наблюдалось по уменьшению количества выделяемого молекулярного кислорода. Самая высокая активность каталазы была характерна для листьев *T. cordata*, которая после 5 минут экспозиции была равна 19,3 мкмоль O_2 /г мин. Сравнивая все три изученных вида древесных растений, можно сказать, что ферментативная активность (при пятиминутной экспозиции) в листьях *T. cordata* была в 2,0 раза выше, чем у *B. pendula*, в 2,5 раза выше, чем в хвое *P. sylvestris*.

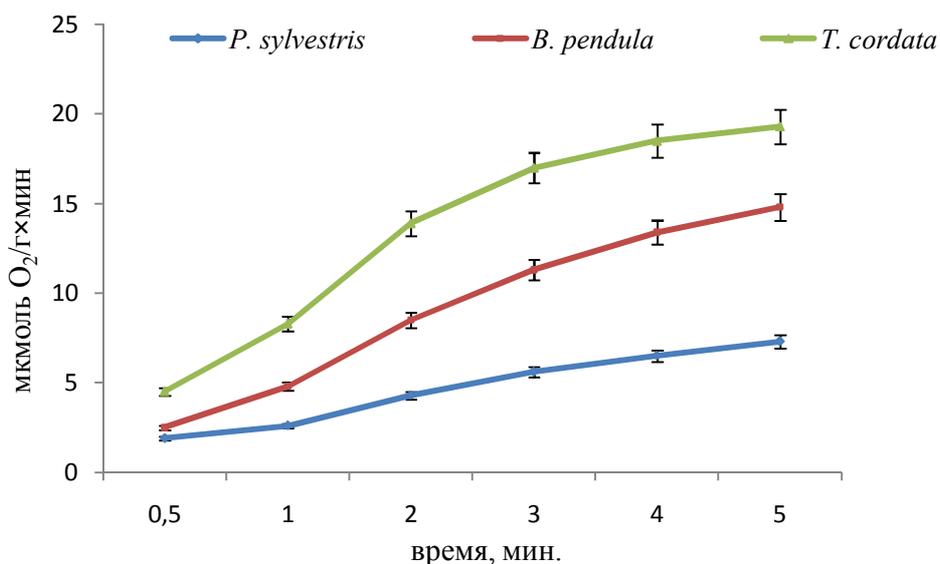


Рис. 2. Динамика изменения активности каталазы

Наблюдения за изменением активности фермента каталазы у древесных растений, в зависимости от места произрастания, показали (рис. 3), что в хвое *P. sylvestris* наиболее высокая активность фермента отмечается в лесопарковой зоне (7,3 мкмоль O_2 /г мин). У особей данного вида, произраставших в селитебной и промышленной зонах города, статистически достоверных отличий по изменению активности каталазы не обнаружено. У *B. pendula* наблюдалось снижение активности фермента у особей, произраставших в более загрязненных районах, в 1,3 раза по сравнению с лесопарковой зоной г. Йошкар-Олы, $p < 0,001$. Активность каталазы в листьях *T. cordata* была самой высокой из всех изученных видов растений (21,6 мкмоль O_2 /г мин – лесопарковая зона) и уменьшалась в зависимости от степени загрязнения района исследований (до 16,6 мкмоль O_2 /г мин – промышленная зона).

Сравнивая специфику работы фермента в зависимости от особенностей вида, можно сказать, что самая низкая активность фермента каталазы была характерна для хвои *P. sylvestris*. Одновременно, как было показано нами ранее (см. рис. 1), самая высокая активность другого железосодержащего фермента – пероксидазы была характерна также для данного вида. В листьях *B. pendula* и *T. cordata* активность каталазы была в среднем в 3,5 раза выше, чем в хвое *P. sylvestris*.

Таким образом, как показали результаты работы, под влиянием негативных воздействий среды происходит снижение активности каталазы (см. рис. 3) и одновременное увеличение активности пероксидазы (см. рис. 1) – ключевых ферментов в формировании и развитии защитных реакций в растительной клетке, обеспечивающих нормальный ход окислительных процессов.

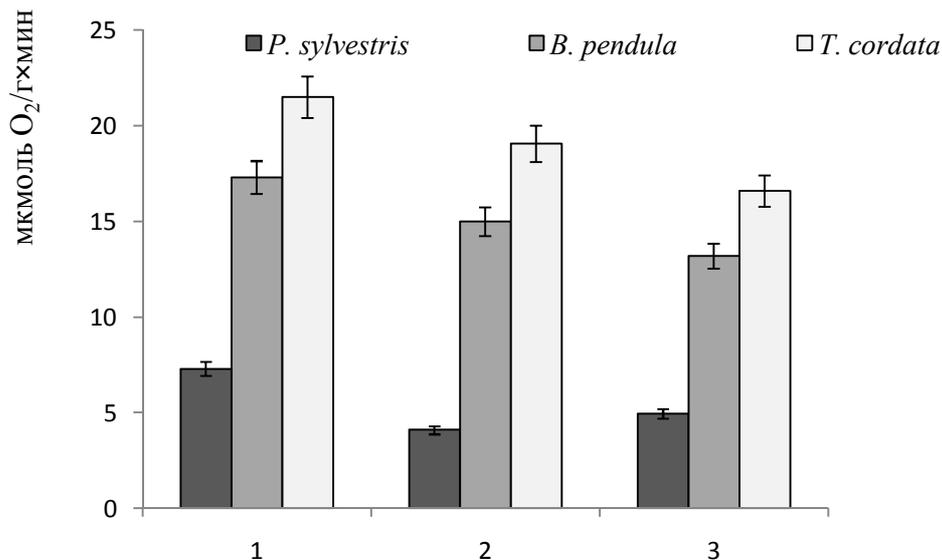


Рис. 3. Изменение активности каталазы в листьях (хвое) древесных растений:
1 – лесопарковая зона; 2 – селитебная зона; 3 – промышленная зона

Известно, что одним из факторов устойчивости растений в условиях техногенного стресса является нормальное или повышенное образование в них веществ, входящих в состав антиоксидантной системы. Показано [8], что в условиях техногенного загрязнения у древесных растений преобразуется активность ключевых антиоксидантных ферментов (каталазы, пероксидазы). Т.А. Михайловой [14] на примере лиственницы европейской, сосны обыкновенной и ели сибирской было показано, что при сильном поражении фтористыми соединениями происходит значительное повышение пероксидазной активности в хвое изученных видов: для лиственницы европейской – в 5 раз, а для ели сибирской и сосны обыкновенной – в 1,7–2 раза.

Таким образом, можно предположить, что одним из важнейших механизмов адаптации растений к меняющейся напряженности факторов среды является изменение активности ряда ферментативных систем. По мере увеличения антропогенного загрязнения окружающей среды происходило увеличение активности фермента пероксидазы у всех исследуемых видов, одновременно наблюдалось снижение активности каталазы. При этом наблюдаются специфические видовые особенности изменения активности железосодержащих оксидаз. Так, для хвои *P. sylvestris* была характерна высокая активность пероксидазы и низкая активность каталазы по сравнению с другими исследуемыми древесными растениями (*B. pendula* и *T. cordata*).

Немаловажное значение в регуляции окислительных процессов отводится медьсодержащему ферменту полифенолоксидазе (КФ 1.14.18.1). Данный фермент не входит в состав антиоксидантной системы, но его роль в ответных реакциях на неблагоприятные условия произрастания растений неоспорима. Многочисленные данные свидетельствуют [15, 16], что в стрессовых условиях (при радиоактивном облучении, избытке тяжелых металлов, изменении химического состава окружающей среды) активность полифенолоксидазы возрастает.

В условиях г. Йошкар-Олы (рис. 4) наблюдалась следующая закономерность – активность фермента полифенолоксидазы у всех древесных растений увеличивалась в направлении от лесопарковой зоны к промышленной зоне. При этом отмечаются специфические особенности вида, наиболее низкая активность фермента была обнаружена

в хвое *P. sylvestris*, в среднем в два раза ниже, чем в листьях *B. pendula* и *T. cordata*. Наиболее высокая активность полифенолоксидазы была характерна для *B. pendula* и колебалась от 1,1 до 1,5 мкмоль/г мин.

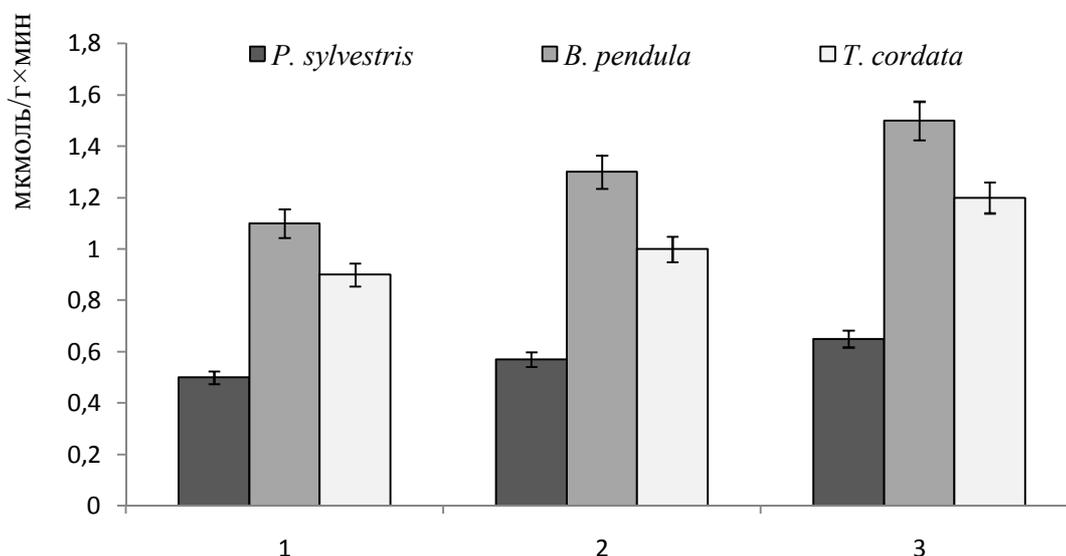


Рис. 4. Изменение активности полифенолоксидазы в листьях (хвое) древесных растений: 1 – лесопарковая зона; 2 – селитебная зона; 3 – промышленная зона

В процессе роста древесных растений в условиях городской среды наблюдалась сходная закономерность: активность медьсодержащего фермента была выше в промышленной зоне города. В литературе высказывается предположение, что действие пероксидазы и полифенолоксидазы, ответственных за окисление фенольных соединений, функционально сопряжены. Это, по-видимому, объясняется тем, что основным местом синтеза фенольных соединений, с образованием которых связана деятельность данных ферментов, являются молодые ткани растений [17].

Выводы.

У древесных растений, произрастающих в условиях городской среды, обнаружен «эффект пероксидазы» [18], т.е. увеличение активности железосодержащего фермента пероксидазы в зонах наибольшего промышленного загрязнения.

Пики наибольшей активности другого железосодержащего фермента каталазы отмечались у исследуемых растений в лесопарковой зоне города. В то же время пик активности медьсодержащего фермента полифенолоксидазы у исследуемых древесных растений приходился также на промышленную зону. По-видимому, колебательный характер изменения пероксидазной (полифенолоксидазной) и каталазной активности у древесных растений объясняется увеличением активности одних ферментов, сопровождающимся одновременно снижением работы других окислительно-восстановительных систем. Результаты нашей работы показали, что увеличение активности железосодержащего фермента пероксидазы и медьсодержащего фермента – полифенолоксидазы сопровождается одновременным уменьшением активности каталазы.

Возможно, в процессе роста древесных растений в условиях городской среды происходит смена дыхательных систем. Изменение доли вклада в общий дыхательный метаболизм различных ферментативных комплексов и перестройка систем дыхания имеют большое адаптационное значение. Следовательно, полифункциональность ферментативных систем проявляется в наличии нескольких ферментов, выполняющих одну и

ту же каталитическую функцию, – весьма ценное свойство, расширяющее адаптационные возможности организма при произрастании в условиях загрязнения среды. Все эти подходы, направленные на повышение активности антиоксидантных ферментов, в конечном счете, приводят к усилению защиты от окислительного стресса и на этой основе – к более высокой резистентности растений к абиотическим факторам городской среды.

Список литературы

1. Крамер, П.Д. Физиология древесных растений / П.Д. Крамер, Т.Т. Козловский. – М.: Лесная промышленность, 1983. – 464 с.
2. Николаевский, В.С. Экологическая оценка загрязнения среды и состояния наземных экосистем методами фитоиндикации / В.С. Николаевский. – М.: МГУЛ, 1999. – 193 с.
3. Воскресенская, О.Л. Проблемы урбоэкологии и пути их решения в современных российских городах / О.Л. Воскресенская, Е.В. Сарбаева, В.С. Воскресенский // «Наука и инновации – 2010», пятая международная школа ISS «SI – 2010», пятый международный научный семинар «Фундаментальные исследования и инновации». – Йошкар-Ола: Мар. гос. ун-т, 2010. – С. 417–422.
4. Неверова, О.А. Применение фитоиндикации в оценке загрязнения окружающей среды / О.А. Неверова // Биофизика. – 2010. – Т. 1. – № 1. – С. 82–92.
5. Cheeseman, J.M. Hydrogen Peroxide and Plant Stress: A Challenging Relationship / J.M. Cheeseman // Plant Stress / Global Sci. Books. – 2007. – №3. – Р. 4–15.
6. Воскресенская, О.Л. Влияние избытка цинка на накопление железа и активность железосодержащих ферментов у овса / О.Л. Воскресенская, И.А. Чернавина, В.А. Аксенова // Физиология растений. – 1986. – Т. 33. – Вып. 6. – С. 1056–1060.
7. Башмаков, Д.И. Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений / Д.И. Башмаков, А.С. Лукаткин. – Саранск: изд-во Мордов. ун-та, 2009. – 236 с.
8. Гарифзянов, А.Р. Роль низкомолекулярных антиоксидантов в устойчивости древесных растений в техногенно загрязненной среде / А.Р. Гарифзянов, С.В. Горелова, В.В. Иванищев // Аграрная Россия. Спец. вып.: материалы междунар. научно.-практ. конф. «Актуальные проблемы дендрологии и адаптации растений». – М.: Лесная промышленность, 2009. – С. 116–118.
9. Alscher, R.G. Reactive oxygen species and antioxidant: relationships in green cells / R.G. Alscher, J.L. Donahue, C.L. Cramer // *Physiol. Plantarum*. – 1997. – Vol. 100. – № 2. – Р. 224–233.
10. Ведение мониторинга атмосферного воздуха на территории города Йошкар-Олы за 2009 год: информ. отчет / ГУП ТЦ «Маргеомониторинг». – Йошкар-Ола, 2009. – 43 с.
11. Prasad, K.V.S.K. Concerted Action of Antioxidant Enzymes and Curtailed Growth under Zinc Toxicity in *Brassica juncea* / K.V.S.K. Prasad, P.P. Saradhi, P. Sharmila // *Environ. Exp. Bot.* – 1999. – Vol. 42. – Р. 1–10.
12. Николаевский, В.С. Биологические основы газоустойчивости растений / В.С. Николаевский. – Новосибирск: Наука, 1979. – 280 с.
13. Неверова, О.А. Использование активности пероксидазы для оценки физиологического состояния древесных растений и качества атмосферного воздуха г. Кемерово / О.А. Неверова // *Сибирский бот. журн.* – 2001. – № 2. – С. 122–128.
14. Михайлова, Т.А. Эколого-физиологическое состояние лесов, загрязненных промышленными эмиссиями: автореф. дис... д-ра биол. наук / Т.А. Михайлова. – Иркутск: Иркутский пед. ин-т, 1996. – 20 с.
15. Рачковская, М.М. Изменение активности некоторых оксидаз как показатель адаптации растений к условиям промышленного загрязнения / М.М. Рачковская, Л.О. Ким // *Газоустойчивость растений*. – Новосибирск: Наука, 1980. – С. 117–126.
16. Siess, H. Antioxidant Functions of Vitamins – Vitamin E and Vitamin C, β -Carotene, and other Carotenoids and Intercellular Communication via Gap Junctions / H. Siess, W. Stahl // *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* – 1997. – Vol. 67. – Р. 364–367.
17. Запрометов, М.Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и их функции в растениях / М.Н. Запрометов. – М.: Наука, 1993. – 272 с.
18. Николаевский, В.С. Эколого-физиологические основы газоустойчивости растений / В.С. Николаевский. – М.: МГУЛ, 1989. – 65 с.

Статья поступила в редакцию 19.02.11.

Работа выполнена в рамках задания Федерального агентства по образованию «Исследование состояния и динамики популяций растений и животных».

V. S. Voskressensky, O. L. Voskressenskaya

**REDOX ENZYMES ACTIVITY CHANGES IN WOODY PLANTS
IN THE URBAN ENVIRONMENT**

The spectrum of woody plants functional multiplicity manifestations is characterized with a change of redox enzymes work, while in terms of urban pollution the level of antioxidant enzymes activity is a specific one for each type. Under the environmental negative effects influence, there is some activation of such redox enzymes as peroxidase and polyphenol oxidase and catalase activity decrease in all the studied woody plants; it indicates a wide variety of enzyme systems of plant bodies that are active in anthropogenic pollution conditions.

Key words: woody plants, urboecology, antioxidant system, peroxidase, catalase, polyphenol oxidase, anthropogenic pollution.

ВОСКРЕСЕНСКИЙ Владимир Станиславович – старший преподаватель кафедры экологии Марийского госуниверситета. Область научных интересов – древесные растения, радиоактивные элементы, тяжелые металлы, урбоэкология. Автор 17 публикаций.

E-mail: voskres2006@rambler.ru

ВОСКРЕСЕНСКАЯ Ольга Леонидовна – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой экологии Марийского госуниверситета. Область научных интересов – экологическая физиология растений, антропогенное загрязнение городской среды, онтогенез растений, общая экология. Автор более 130 публикаций, в том числе четырех монографий.

E-mail: voskres2006@rambler.ru