

ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ЛИСТЬЯХ ЧИНАРЫ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЫ

Мухамедова С.Н.

Ташкентский педиатрический медицинский институт (Ташкент)

Абдуллаева М.М.

Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека (Ташкент)

Левицкая Ю.В.

Центр передовых технологий при Министерстве инновационного развития Республики Узбекистан (Ташкент)

АННОТАЦИЯ

В статье представлены данные о состоянии антиоксидантной системы чинара (*Platanus orientalis*) в период с мая по сентябрь. В листьях чинара оценивалось количество малонового диальдегида и пролина, а также изучалась активность трех основных антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы. Кроме влияния климатических условий оценивалось влияние дополнительного техногенного стрессорного фактора в виде автомагистралей.

Ключевые слова: стрессоустойчивость растений, антиоксидантная система, активные формы кислорода, перекисное окисление липидов, ферментативная активность, пролин.

Комплексное исследование состояния городских зеленых насаждений в условиях сложной экологической ситуации, характерной для крупных городов и промышленных центров, позволяет понять механизмы адаптации растений, особенно в условиях постоянно возрастающего загрязнения окружающей среды. Наиболее часто при изучении устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды учитывается активность антиоксидантных ферментов. При негативных воздействиях в клетках растений усиливается образование активных форм кислорода, что в итоге может привести к окислительному стрессу [1].

Изучение естественных механизмов устойчивости растений к разнообразным стрессовым воздействиям позволит решить одну из актуальных задач - сохранение существующих на Земле экосистем, а кроме того создать

благоприятные условия для жизни человека, в том числе и в условиях глобальной урбанизации. Для озеленения городов нашего региона чинара (*Platanus orientalis*) является одной из наиболее подходящих и часто рекомендуемых культур. Это относительно быстрорастущее и долгоживущее растение - в Самаркандской области статус «Государственного памятника природы» присвоен чинаре, чей возраст превышает 600 лет.

Учитывая сказанное выше, целью данной работы явилось изучение сезонное состояния антиоксидантной системы в листьях чинары, произрастающей в условиях ботанического сада Национального университета Узбекистана (Ташкент) и вблизи оживленной магистрали в центральной части города Ташкента, поскольку именно Чинара, или Платан восточный (*Platanus orientalis*) по-праву является символом нашего региона, кроме того это одна из самых древних культур, ее относят к реликтовым растениям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовались листья растений вида Чинара, или Платан восточный (*Platanus orientalis*), произрастающих в районе ботанического сада и зеленых насаждений Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека (группа «Ботанический сад») и листья растений, произрастающих в районе оживленного перекрестка центральной магистрали в районе площади Амира Тимура г. Ташкента (группа магистраль). Листья собирались в утренние часы (7-9 часов утра). Для исследований были использованы деревья приблизительно одного возраста. Для определения количества МДА как конечного продукта ПОЛ была использована методика определения ТБК-реакционных продуктов. Для оценки активности антиоксидантной системы нами были изучены ферментативные активности пероксидазы (по скорости реакции окисления бензидина под действием пероксидазы), каталазы (используя способность пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс) и супероксиддисмутазы (по способности фермента ингибировать аутоокисление низких концентраций адреналина) листьев [2]. Количество свободного пролина определяли по нингидриновой реакции [3]. В работе был использован спектрофотометр Cary Eclipse 60 (США). Статистическую обработку данных производили с использованием программы Excel 2010 (Microsoft, США). В каждом измерении было не менее 5 повторов. Для полученных данных были рассчитаны средние арифметические значения и их стандартные отклонения. Для определения значимости различий между средними значениями использовали t-критерий Стьюдента с уровнем значимости 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки общего окислительного стресса нами использовалось измерение накопления конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА). Нами было обнаружено, что на первых этапах вегетационного периода (апрель-май) его количество минимально. Поэтому в дальнейшем уровень МДА в период апрель-май нами принимался за базовый или «нулевой». Однако с течением времени происходит достаточно резкое увеличение концентрации МДА: в августе количество МДА увеличивается на 89% по сравнению с начальными значениями, а в сентябре этот же показатель составляет уже 326% от значений в апреле/мае. Для деревьев, произрастающих вблизи оживленной магистрали отмечалось еще более значительное увеличение количества МДА в листьях в августе месяце – на 266% от базовых значений, однако в дальнейшем рост МДА несколько замедлялся и в сентябре был увеличен на 315%. То есть разница между количеством МДА в листьях чинар, растущих в условиях ботанического сада, и в условиях магистрали составила всего 11%.

Оценка активности антиоксидантной системы (АОС), рассчитываемая нами как отношение показателей количества МДА в августе и сентябре продемонстрировала, что данный показатель имеет значение меньше 1 в обоих случаях, однако намного ниже в условиях ботанического сада – показатель равен 0,27, в то время как в условиях дополнительного антропогенного стресса активность АОС чинары выше практически в 3 раза и составляет 0,84 (рис. 1).

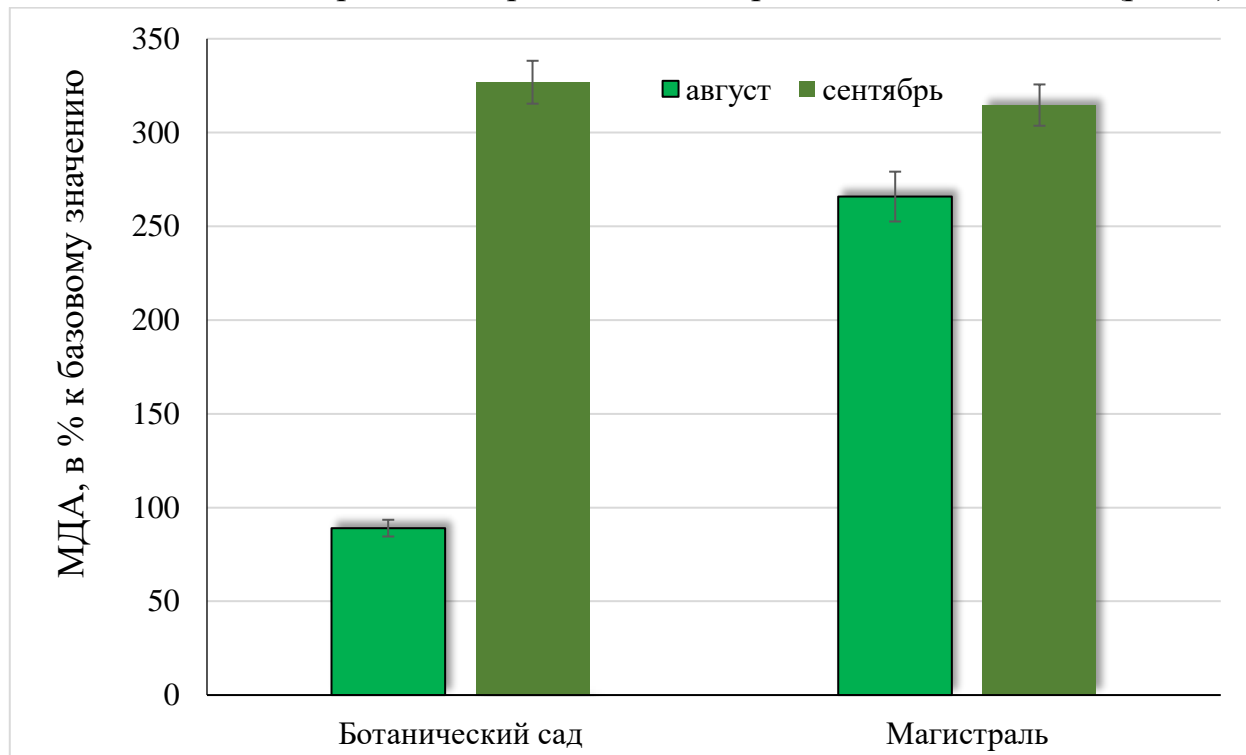


Рисунок 1. Динамика накопления МДА в условиях ботанического сада и автомагистрали в листьях чинары (за 0 приняты показания количества МДА в начале сезона; $n=20$; $p<0.05$)

Чрезмерное действие различных абиотических факторов приводит к активации защитных и приспособительных реакций растений, при этом адаптация растений к абиотическим стрессорам сопровождается накоплением свободного пролина в тканях. Увеличение содержания пролина может служить в качестве количественной меры стресса [4].

В начале сезона в условиях ботанического сада в листьях чинары отмечалось в среднем 0,02 мг%/1г сухого вещества (св), к концу сезона количество пролина увеличивалось на 30% (в среднем 0,026 мг%/1гсв) по сравнению с начальными показателями. В то же время в начале сезона в листьях чинары, произрастающей вблизи автомагистрали количество пролина составляло уже 0,085 мг%/1гсв в среднем, что в 4,25 раза больше, чем показатели для ботанического сада. Этот показатель увеличивался и дальше, и к концу сезона уже составлял в среднем 1,022 мг%/1гсв – то есть в 12 раз больше, чем в начале сезона, а по сравнению с показателями того же периода деревьев, растущих в ботаническом саду университета этот показатель был больше практически в 40 раз. Вполне вероятно, что чинару можно использовать в качестве биоиндикатора состояния атмосферного воздуха (таб. 1).

Таблица 1.

Сезонные изменения в содержании пролина в листьях чинары в зависимости от места произрастания ($n=20$, * $p<0.05$)

Условия произрастания	Количество пролина (мг%/1гсв)	
	Май	Сентябрь
Ботанический сад	0,02±0,0006	0,026±0,002*
Магистраль	0,085±0,0037	1,022±0,039*

В наших экспериментах было обнаружено, что в начале жаркого сезона для деревьев, произрастающих в условиях университетского ботанического сада отмечалась низкая пероксидазная активность - в период с мая по август ферментативная активность не превышала 0,001 условных единиц. Однако в сентябре месяце отмечается резкое возрастание активности фермента в 8 раз. Вероятно, что с течением времени происходит накопление физиолого-биохимических нарушений, а возрастание активности пероксидазы как терминальной оксидазы - это защитная реакция на стресс-факторы, обеспечивающая сопротивляемость организма и обезвреживание вредных соединений (рис. 2).

Условия урбанизированной среды негативно сказываются на состоянии, росте и развитии растений, а также на их функциональной активности, и одним из наиболее удобных индикаторов (в частности, газодымового стресса) является именно пероксидазная активность. Нами было обнаружено, что в начале сезона активность пероксидазы листьев чинары практически не отличалась от показаний, полученных для растений, растущих в ботаническом саду, однако с ростом среднесуточных температур к началу августа отмечалось увеличение активности пероксидазы в 3 раза. Следует отметить, что к началу завершения сезона (сентябрь месяц) пероксидазная активность в листьях чинары, произрастающей вблизи оживленной автомагистрали, была в 1,8 раза меньше по сравнению с активностью фермента в листьях чинары ботанического сада (рис. 2).

Известно, что изменение активности каталазы связано с биологическими особенностями растений и является в некоторой степени показателем реакции растительного организма на комплекс экологических воздействий.

В наших экспериментах было обнаружено, что в условиях относительно благоприятных условий произрастания (ботанический сад) первый пик активности каталазы чинары смещен ко второй половине августа, а второй пик активности имеет более пролонгированный характер. Общая каталазная активность носит колебательный характер с наименьшими значениями в начале июня и начале сентября (рис. 2).

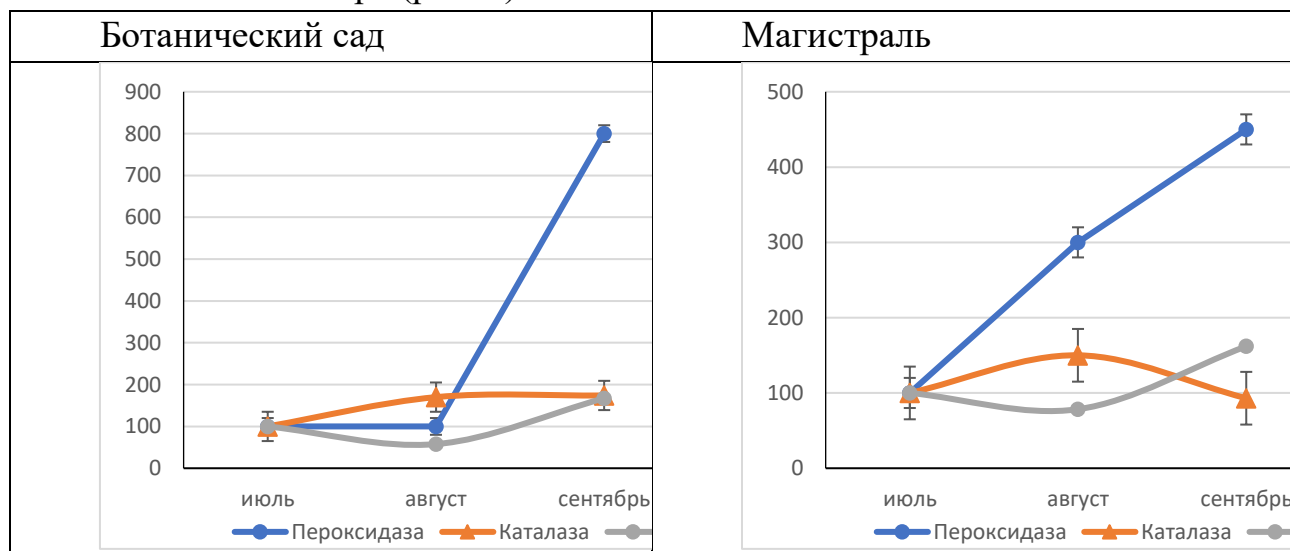


Рисунок 2. Сравнительный анализ сезонной активности ферментов АОС листьев катальпы в зависимости от условий произрастания. (n=20, p<0.03)

Интересно отметить, что в начале сезона практически не наблюдалась разность в активности каталазы как у растений, принятых за контроль (растущих в ботаническом саду университета), так и у растений, растущих вблизи магистрали.

Опираясь на полученные нами данные об активности каталазы листьев растений, произрастающих вблизи оживленной магистрали, можно предположить, что в августе (в период максимально высоких температур) показатели жизнеспособности растения снижаются в среднем на 12%. Динамика каталазной активности отличается в зависимости от условий произрастания – для ботанического сада характерна кривая роста активности по типу гиперболы (резкое увеличение в период с июня по август и незначительный рост с сентября по октябрь), в то время как для магистрали кривая каталазной активности носит характер параболы с максимумом значений в августе и снижением активности в сентябре на 52% по сравнению с начальными значениями (рис. 2).

Особое место в защитной реакции растений в ответ на стрессовые воздействия окружающей среды принадлежит супероксиддисмутазам – ферментам антиоксидантной системы защиты растений, активность которых значительно возрастает в условиях стрессовой нагрузки на растения. Анализ активности СОД в динамике показал, что с течением времени происходят колебания этого показателя с максимальным пиком, приходящимся на сентябрь (на 67%). В августе отмечается снижение показателя в 1,7 раза, а в октябре отмечается спад ферментативной активности на 30% по сравнению с начальными значениями (рис. 2).

При изучении активности СОД листьев чинары, растущих вблизи магистрали, изменения в динамике ферментативной активности практически не наблюдались, однако показатели активности были выше по сравнению с теми же показателями, полученными для растений ботанического сада, степень колебаний значений была несколько меньше, а в конце сезона в октябре месяце активность фермента была на 15% выше, чем в начале сезона.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ: (REFERENCES)

1. Miura K. and Tada Ya. Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid//Frontiers in plant science. – 2014. –Vol. 5. – P. 1-12.
2. Борисова Г. Г., Малева М. Г., Некрасова Г. Ф., Чукина Н. В. Методы оценки антиоксидантного статуса растений.- Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. – 72 с.
3. Шихалеева Г.Н., Будняк А.К., Шихалеев И.И., Иващенко О.Л. Модифицированная методика определения пролина в растительных объектах// Вестник Харьковского национального университета. Серия: биология.- 2014. - Вып. 21.- № 1112.- С. 168-172.
4. Кириллов А.Ф., Козьмик Р.А., Даскалюк А.П., Кузнецова Н.А., Харчук О.А. Оценка содержания пролина в растениях сои при воздействии засухи и засоления. // Доклады по экологическому почвоведению 2013, №1, вып.18