

УДК 581.19+577

Артемук Е.Г.¹, Кобринец Л.А.², Ивашковец Н.Е.¹

¹ УО «Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина», г.Брест,

² УО «Брестский государственный технический университет», г.Брест

ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ СВИНЦА КАК СТРЕСС-ФАКТОРА НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ПРОРОСТКАХ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

The growth and development of the plant organism goes is influenced by various stress factors: increased and or low temperatures, drought, salinization, pollution with heavy metals. Intention to work was to study the stress response of leguminous plants subjected to the toxic effect of lead ions. Studies have shown that high concentrations of lead ions lead to a change in the activity of antioxidant enzymes – catalase and peroxidase. The higher peroxidase activity compared with catalase indicates a more significant role of this enzyme in the oxidative mechanisms of resistance to the action of leguminous plants lead.

В последнее время в связи с интенсивным развитием промышленности, повсеместным использованием транспорта и применением минеральных удобрений возросло влияние тяжелых металлов (ТМ) как экстремального фактора на живые организмы. Известно, что значительную роль в миграции ТМ играют растения. Высокие концентрации ТМ вызывают окислительный стресс у растений, что ведет к усилению перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран, повреждению белков и нуклеиновых кислот, и целому ряду серьезных функциональных нарушений, поскольку повреждаются различные компоненты клеток [1, 2].

В отсутствие экстремальных факторов окислительный процесс в клетках протекает сбалансированно, при этом концентрация продуктов окисления поддерживается на постоянном низком уровне. Способность растений сопротивляться экстремальным условиям произрастания, приспосабливаться к ним и сохранять при этом свой жизненный потенциал является одним из определяющих условий существования растений и зависит от возможности реализовать защитно-приспособительные механизмы, то есть адаптироваться к разнообразным стрессовым воздействиям.

В условиях воздействия стресс-факторов, в процессе адаптации к неблагоприятным условиям растение проходит два этапа: стресс-реакция (быстрый первичный ответ) и специализированная адаптация [3]. Стресс-реакция является кратковременной защитой растений от гибели за счет формирования быстрых защитных механизмов устойчивости. Обычно она сопровождается повреждением клеток и их обменных механизмов.

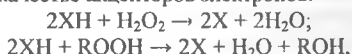
Важным фактором устойчивости растений к окислительному стрессу является функционирование эффективной антиоксидантной системы, ключевую роль в которой играют ферменты каталаза и пероксидаза.

Каталаза всегда присутствует в системах, где происходят процессы клеточного дыхания с участием флавиновых дегидрогеназ, в результате деятельности которых образуется токсичная для клетки перекись водорода. Поэтому каталаза выполняет важную роль, разлагая токсичную для клеток перекись водорода:



Кроме того, весьма существенной должна быть признана роль каталазы в снабжении молекулярным кислородом тех участков ткани, куда доступ его в силу тех или иных причин затруднен [4].

Пероксидазы – обширная группа ферментов, катализирующих реакции окисления органического и неорганического субстрата с использованием пероксида водорода или органических пероксидов в качестве акцепторов электронов:



где ХН – восстановленный субстрат, Х – окисленный субстрат.

Пероксидаза способна осуществлять контроль за уровнем перекиси водорода, восстанавливая ее до воды.

В исследованиях ряда авторов [5-7] показано, что особое место в защитных реакциях растений на действие ТМ принадлежит антиоксидантным ферментам (каталаза, пероксидаза), активность которых значительно возрастает в этих условиях, поэтому целью данной работы было изучение активности ферментов каталазы и пероксидазы как компонентов антиоксидантной системы защиты растений, обеспечивающей устойчивость растений гороха и люпина к высоким концентрациям свинца.

Объектами исследования служили проростки (корешки и побеги) сельскохозяйственных растений: горох полевой сорта «Агат», люпин узколистный сорта «Кармавья». Для исследования влияния солей свинца в среду добавляли раствор $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ в диапазоне концентраций от 10^{-5}M до 10^{-3}M . Все опыты выполнялись с 3-кратной повторяемостью. В качестве контроля использовалась среда, не содержащая ионов свинца

Активность пероксидазы в проростках гороха и люпина определяли по методу А.Н. Бояркина [7], основанному на определении скорости реакции окисления бензидина под действием пероксидазы, содержащейся в растениях, до образования продукта окисления синего цвета определенной концентрации.

Изучение активности каталазы в проростках растений проводили по методу М.А. Королюк [8], основанному на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Результаты наших исследований воздействия ионов свинца на активность антиоксидантных ферментов показали, что ионы свинца в концентрациях 10^{-5} – 10^{-1}M привели к увеличению активности пероксидазы в корешках гороха полевого на 7,0–31,6% (7-е сутки), 7,3–16,4% (10-е сутки) и 21,9–65,6% (14-е сутки) по сравнению с контрольными растениями (таблица 1). Усиление активности пероксидазы свидетельствует об активизации антиоксидантной системы для утилизации перекиси водорода. В процессе роста проростков гороха активность пероксидазы в корешках и побегах постепенно снижается на 10-е и 14-е сутки. Следовательно, можно предположить, что защитные функции пероксидазы снижаются со временем.

Таблица 1 – Активность пероксидазы в проростках гороха полевого при воздействии ионов свинца

Концентрация свинца	Активность пероксидазы, у.е./г сырой массы					
	Корешки			Побеги		
	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки
Контроль	5,7	5,5	3,2	2,3	2,6	2,1
10^{-5}M	6,1	5,5	3,9	2,7	2,3	1,1
10^{-4}M	6,2	5,9	4,3	2,4	2,3	1,1
10^{-3}M	7,5	6,4	5,3	2,9	2,4	1,4

Установлено, что ионы свинца в концентрациях 10^{-4} М и 10^{-3} М приводили к увеличению активности каталазы в корешках гороха полевого на 8,2–11,5% (7-е сутки), 44,3–45,9% (10-е сутки) и 2,2–11,6% (14-е сутки) по сравнению с контрольными растениями (таблица 2). Увеличение активности каталазы наблюдалось также на 7-й день и в побегах гороха. На 10-й и 14-й день увеличение активности каталазы в побегах наблюдалось только при действии ионов свинца в концентрации 10^{-3} М. Показано, что в корешках и побегах гороха полевого в процессе роста проростков активность каталазы, так же как и пероксидазы, практически во всех вариантах опыта снижается на 14-е сутки (таблица 2).

Таблица 2 – Активность каталазы в проростках гороха полевого при воздействии ионов свинца

Концентрация свинца	Активность каталазы, мкат/л					
	Корешки			Побеги		
	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки
Контроль	335,7	276,9	297,9	473,5	465,1	413,2
10^{-5} М	293,6	307,7	305,7	674,2	475,8	433,2
10^{-4} М	363,2	399,6	304,4	668,0	375,3	398,3
10^{-3} М	374,3	403,9	332,6	694,0	497,7	489,0

Уменьшение активности каталазы и пероксидазы в проростках гороха при дальнейшем их проращивании может свидетельствовать о смещении прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону усиления генерации активных форм кислорода и участия их в окислении липидов мембран.

У растений люпина узколистного при повышении концентрации ионов свинца также наблюдалось увеличение активности пероксидазы. Так, ее активность в корешках люпина возрастала в 2,0–3,4 раза (7-е сутки), 1,6–4,5 раза (10-е сутки) по сравнению с контрольными растениями (таблица 3). Резкое увеличение активности пероксидазы при высоких концентрациях свинца (10^{-2} М и 10^{-3} М) наблюдалось также и в побегах люпина узколистного.

Таблица 3 – Активность пероксидазы в проростках люпина узколистного при воздействии ионов свинца

Концентрация свинца	Активность пероксидазы, у.е./г сухой массы					
	Корешки			Побеги		
	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки
Контроль	1,65	1,61	2,01	0,56	0,68	1,71
10^{-5} М	3,29	2,62	2,25	0,60	0,72	2,16
10^{-4} М	6,42	7,21	–	3,48	2,67	–
10^{-3} М	5,73	5,07	–	4,82	3,69	–

Однако в отличие от растений гороха, в корнях проростков люпина узколистного наблюдается снижение активности каталазы (таблица 4). В этом случае из-за уменьшения активности каталазы, пероксидаза становилась главным ферментом, катализирующим распад перекиси водорода.

Таблица 4 – Активность каталазы в проростках люпина узколистного при воздействии ионов свинца

Концентрация свинца	Активность каталазы, мкат/л					
	Корешки			Побеги		
	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки
Контроль	222,7	170,5	161,6	241,8	207,9	232,8
10 ⁻⁵ М	206,7	106,8	44,2	261,8	311,4	241,4
10 ⁻⁴ М	199,7	94,6	–	306,6	349,7	–
10 ⁻³ М	84,2	98,6	–	257,1	342,0	–

Токсичное воздействие ионов свинца на растения люпина узколистного, так же как и на растения гороха полевого, заключалось в ингибировании роста корешков и побегов, уменьшении тургора, наблюдались различные внешние анатомические нарушения и, наконец, гибель растений.

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что при воздействии ионов свинца на растения гороха и люпина происходит изменение активности ферментов антиоксидантной системы – каталазы и пероксидазы. На порядок более высокая активность пероксидазы по сравнению с каталазой свидетельствует о более значительной роли этого фермента в механизмах устойчивости бобовых растений к действию свинца.

Данные исследования проводились в рамках научно-исследовательской работы, поддерживаемой Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект "Наука НАНБ-вузы" №Б110Б-63).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cadmium and copper toxicity for tomato seedlings / С. Mediouni [et al.] // *Agronomy for Sustainable Development*. – 2006. – Vol. 26, № 4. – P. 227–232.
2. Мерзляк, М.Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений / М.Н. Мерзляк // *Соросовский образовательный журнал*. – 1999. – № 9. – С. 20–26.
3. Колесниченко, А.В. Белки низкотемпературного стресса растений / А.В. Колесниченко, В.К. Войников.; отв. ред. В.К. Войников; СО РАН. Сибирский институт физиологии и биохимии растений (СИФИБР). – Иркутск: Арт-Пресс, 2003. – 196 с.
4. Диксон, М. Ферменты: в 3 т. / М. Диксон, Э. Уэбб; пер. с англ. – М.: Мир, 1982. – Т. 3 – 1120 с.
5. Влияние кадмия на СО₂-газообмен, переменную флуоресценцию хлорофилла и уровень антиоксидантных ферментов в листьях гороха / Т.И. Балахина [и др.] // *Физиология растений*. – 2005. – Т.52, № 1. – С. 21–26.
6. Холодова, В.П. Адаптация к высоким концентрациям солей меди и цинка растений хрустальной гравки и возможность их использования в целях фиторемедиации / В.П. Холодова, К.С. Волков, Вл.В. Кузнецов // *Физиология растений*. – 2005. – Т.52, № 6. – С. 848–858.
7. Гавриленко, Л.Е. Большой практикум по физиологии растений / Л.Е. Гавриленко, Л.М. Хандобина. – Минск: Высшая школа, 1975. – С. 207–209.
8. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук [и др.] // *Лабораторное дело*. – 1988. – № 1. – С. 16–19.