

УДК 581.52 + 581.1 + 632.15

І. О. Філонік, Л. Ф. Заморуєва
Дніпропетровський національний університет

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ БІЛКОВОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНІВ НАСІННЯ КЛЕНА ТА КАШТАНА З РІЗНИХ ДІЛЯНОК ТЕХНОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ м. ДНІПРОПЕТРОВСЬКА

Досліджено показники білкового та ліпідного обмінів – вміст білків, активність ліпаз, рівень ліпідів та їх склад, компонентний склад вільних жирних кислот у насінні клена та каштана з різних ділянок техногенного забруднення м. Дніпропетровська. Виявлені показники, які можуть використовуватись як біомаркери антропогенного забруднення у промисловому регіоні.

The indexes of protein and lipid exchanges – the content of proteins, lipase activity, level of lipids and their composition, component composition of free fatty acids in the maple and chestnut seeds from several sites of Dnepropetrovsk technical pollution were investigated. The revealed figures can be used as biomarkers of anthropogenic pollution in industrial region.

Рівень антропогенного забруднення в останній час в Дніпропетровському регіоні та інших промислових районах України досяг великих масштабів. Поблизу промислових підприємств та автомагістралей періодично утворюються високі концентрації токсичних сполук, що призводить до комплексного забруднення атмосфери, поверхневих та ґрунтових вод, погіршення фізико-хімічних властивостей ґрунтів, наносить вагому шкоду природним рослинним екосистемам та штучним насадженням [1]. Рослинні організми під впливом постійної дії забруднюючих речовин є інтегральними показниками стану навколишнього середовища, відбиваючи її екстремальні характеристики. Але функціональна діагностика стану рослин при забрудненні довкілля зараз практично відсутня. Її розробка необхідна для використання фізіолого-біохімічних критеріїв з метою оцінки стійкості рослин як для техногенної інтродукції видів, так і для фітоіндикації стану середовища. Тому роботи, направлені на вирішення цієї важливої проблеми, є актуальними і необхідними.

Вивчали сорбційні здібності 23 деревних порід по накопиченню важких металів в умовах міських техногенних навантажень [9]. Виявлено, що вибірковість в їх накопиченні окремими деревними видами обумовлена їх генотипічними властивостями. Максимальний сорбційний ефект до цього роду забруднювачів відмічено у наступних видів: черемхи Маака, тополі корейської, осики, клена дрібнолистого та прирічкового. Каштан посівний був більш стійким за інші лісові види до забруднення сіркою [10]. Він показав кращі результати на ґрунтах середнього гранулометричного складу, але на глинистих ґрунтах його ріст був помірним. Відмічено високий вміст сірки в його листях на всіх ділянках. Виявлено, що клен явір, тополь канадський проявляють високу стійкість до вихлопних газів, в той час, як клен гостролистий та каштан кінський звичайний дуже чутливі до їх дії [5]. Знайдено також, що пошкоджені вихлопними газами автотранспорту особини клена явора та клена гостролистого відрізняються від непошкоджуваних комплексним складом ферментів пероксидази та супероксиддисмутази листкових зачатків [5]. Показано також, що підвищення накопичення важких металів різними органами сіяців дуба черешчатого та каштана кінського звичайного викликає підвищення вмісту вільних

амінокислот у листях та коренях обох видів. Однак у менш стійкого каштана кінського підвищення вмісту вільних амінокислот є більш суттєве. Показано також, що в листях каштана кінського під впливом сірчаного газу спостерігалось пригнічення біосинтезу білка, а у стійкого дуба – навпаки, активація його біосинтезу. Відмічено активацію гідролітичних ферментів у листях берези повислої та гледичії звичайної під впливом емісії промислових підприємств, що може призводити до руйнування клітинних стінок у рослин [6]. Виявлено також, що у нестійкого клена гостролистого в умовах промплощадок коксохімічних підприємств пошкодження листя некрозом може досягати 30–40%. Отже, рослини використовують різні механізми для адаптації в умовах антропогенного навантаження при дії поллютантів, які необхідно досліджувати, щоб зменшити рівень порушень. Перспективним при вивченні неспецифічних механізмів адаптації деревних культур до дії техногенного забруднення є дослідження ізоферментних систем, а також їх змін в умовах дії промислових токсикантів, що досить глибоко вивчалось у насінні сосни звичайної по таких ферментах, як пероксидаза, поліфенолоксидаза, каталаза, глутаматдегідрогеназа, лейцинамінопептидаза, алкогольдегідрогеназа, малатдегідрогеназа, малікензим, діафораза, супероксиддисмутаза, де були виявлені не тільки адаптаційні зміни, але й генетичні порушення, викликані антропогенним тиском.

Метою даної роботи було вивчення показників білкового та ліпідного обмінів у насінні клена гостролистого та каштана кінського з різних промплощадок та автомагістралей м. Дніпропетровська для виявлення біомаркерів техногенного забруднення.

Відбір зразків проводили у жовтні 2003 р. поблизу промислових підприємств (шинний завод, завод пресів) та транспортних магістралей (район річкового порту) м. Дніпропетровська. Вміст білків визначали за методом Бредфорд [7], питому активність протеолітичних ферментів (рН 7,7) – за [11], активність інгібіторів трипсину та хімотрипсину – за [2]. Загальні ліпіди із насіння виділяли за методом [4], фракційний склад ліпідів визначали тонкошаровою хроматографією (ТШХ) на пластинках Silufol (Чехія) з кількісним денситометруванням на денситометрі ДО-4М після проявлення фракцій у парах йоду [8]. Компонентний склад ВЖК було визначено після їх метилювання методом газорідинної хроматографії (ГРХ) на хроматографі Chrom-5 (Чехія) [8]. Результати експериментів були оброблені статистично [3], повторність дослідів 3–5-кратна.

Знайдено редукцію вмісту легкорозчинних білків на 7–31% у насінні каштана з району найбільш забрудненої ділянки шинного заводу та підвищення вмісту білків у насінні каштана з забруднених зон біля заводу пресів та району річпорту, та у клена гостролистого – з усіх техногенних зон (табл. 1). У насінні каштана, відібраного біля заводу пресів та річкового порту, вміст білків підвищувався, як адаптивна реакція цих деревних культур на дію антропогенного тиску, що могло свідчити про не дуже високий рівень забруднення, порівняно з ділянкою біля шинного заводу. При цьому активність нейтральних протеїназ у більшості варіантів із забруднених ділянок підвищувалась – як в насінні клена, так і каштана; що корелювало з активацією гідролаз у листях деревних рослин при дії промислових токсикантів за літературними даними [6]. Активність інгібіторів протеїназ при цьому була знижена на 17–83% у більшості варіантів насіння деревних рослин з техногенних зон, що могло свідчити про адаптивні процеси до дії техногенного забруднення у обох деревних порід та зниження їх захисного потенціалу. Крім цього, зниження вмісту білка та активація протеїназ, в більшій мірі в насінні клена гостролистого, могли свідчити про посилення гідролітичних процесів розщеплення білків у насінні обох деревних

порід під впливом техногенного забруднення, а також тенденції до редукції біосинтезу білків. Виявлено також зниження вмісту вільних амінокислот на 14–45% у насінні клена та каштана при техногенному забрудненні, що може бути обумовленим як затримкою їх біосинтезу, так і комплексоутворенням з важкими металами, що може у свою чергу свідчити про досить високі рівні техногенного навантаження на дослідних ділянках м. Дніпропетровська (табл. 2).

Таблиця 1

Вміст водорозчинних білків, питома активність протеїназ та інгібіторів протеїназ у насінні клена та каштана в умовах техногенного забруднення м. Дніпропетровська

Зразок, район відбору	Вміст білка		Протеолітична активність		Активність інгібіторів			
	мг/г наважки	% від контролю	відн.од г б. хв	% від контролю	трипсину		хімотрипсину	
					мг/г наважки	% від контролю	мг/г наважки	% від контролю
Насіння клена гостролистого, - ботанічний сад, контроль	8,4*	100	0,4	100	117,1	100	54,1	100
- шинний завод	5,8	69	0,86	215	80,6	69	39,1	72
- завод пресів	7,8	93	0,438	110	121,0	102	44,8	83
- річпорт	6,0	71,4	3,33	750	112,7	96	80,4	147
Насіння каштана кінського, - ботанічний сад, контроль	8,2	100	8,53	100	68,4	100	4,15	100
- шинний завод	6,3	77	8,99	105	52,4	76	0,7	17
- завод пресів	14,4	175	10,41	122	41,6	61,4	3,945	93
- річпорт	14,0	170	13,09	153	40,0	58,5	0	51

Примітка: похибка вибірки не перевищує 5% від середніх значень

Таблиця 2

Активність ліпаз та вміст вільних амінокислот у зразках клена та каштана, зібраних з промислових ділянок м. Дніпропетровська

Зразок, район відбору	Активність ліпази, відн.од./100 г наважки годину				Вміст вільних амінокислот	
	кисла	лужна	сумарна	% від контролю	мг/100 г наважки	% від контролю
Насіння клена гостролистого, - ботанічний сад, контроль	20,8*	16,6	37,4	100	6,3	100
- шинний завод	16,6	12,5	29,1	78	5,04	80
- завод пресів	14,6	8,3	22,9	61	4,37	69
- річпорт	14,6	11,7	26,3	72	5,0	79
Насіння каштана кінського, - ботанічний сад, контроль	18,7	23	41,7	100	8,55	100
- шинний завод	10,4	20	30,1	72	7,33	86
- завод пресів	10,4	18,2	28,6	69	5,95	70
- річпорт	10,4	18,3	28,7	69	4,7	55

Примітка: похибка вибірки не перевищує 5% від середніх значень

Активність ферментів ліпідного обміну ліпаз була пригніченою як у насінні каштана, так і клена гостролистого з техногенних зон (табл. 2). Вміст загальних ліпідів при цьому підвищувався в насінні обох деревних порід з техногенних зон (табл. 3), що корелювало з пригніченням активності ферментів ліпідного обміну і

свідчило про адаптивні процеси у деревних рослин при дії техногенного навантаження. При цьому, якщо у клена вміст вільних жирних кислот було понижено при техногенному забрудненні, то в насінні каштана їх вміст був на рівні контролю і навіть дещо підвищений (річпорт) (табл. 4). По складу ВЖК відмічено суттєве підвищення вмісту олеїнової кислоти C_{18:1} у насінні каштана з техногенних зон (у 1,5–2 рази), тоді як у клена їх вміст було редуковано, і більш суттєво – у варіанті з річпорту (табл. 5). Підвищення рівня ненасичених жирних кислот свідчило про активацію вільнорадикальних процесів при адаптації чутливої деревної породи каштана до дії техногенного пресу

Таблиця 3

Вміст загальних ліпідів у насінні клена та каштана з різних техногенних зон м. Дніпропетровська

Зразок, район відбору	Загальні ліпіди	
	% від наважки	% від контролю
Насіння клена гостролистого, - ботанічний сад, контроль	2,58	100
- шинний завод	5,90	229
- завод пресів	3,83	148
- річпорт	2,80	109
Насіння каштана кінського, - ботанічний сад, контроль	1,43	100
- шинний завод	2,65	185
- завод пресів	4,18	292
- річпорт	2,78	194

Таблиця 4

Компонентний склад загальних ліпідів у насінні клена та каштана, зібраних з різних промислових ділянок м. Дніпропетровська

Зразок, район відбору	Вміст компонентів загальних ліпідів, %					
	ФЛ	ДГ	С	ВЖК	ТГ	ЕС
Насіння клена гостролистого, - ботанічний сад, контроль	21,83	16,20	17,61	19,01	12,68	12,68
- шинний завод	20,47	16,40	17,79	18,67	12,67	14,0
- завод пресів	19,86	17,12	17,81	18,49	12,33	14,38
- річпорт	20,94	18,24	18,24	16,21	12,16	14,19
Насіння каштана кінського, - ботанічний сад, контроль	22,14	16,43	15,71	16,43	13,57	15,71
- шинний завод	20,64	17,77	15,11	16,29	14,19	16,00
- завод пресів	19,54	17,29	15,03	16,54	15,03	16,54
- річпорт	19,84	17,27	16,06	17,28	13,67	15,91

Вивчення фізіолого-біохімічних характеристик насіння каштана кінського та клена гостролистого з різних ділянок антропогенного забруднення виявило дещо різні адаптивні реакції двох деревних порід на дію техногенного пресу. По цим показникам обидва види – каштан кінський та клен гостролистий – можна віднести до чутливих, але каштан краще адаптується до хронічної дії промислового забруднення, ймовірно, за рахунок змін фізіологічних процесів. У клена гостролистого при дії антропогенного навантаження виявлено більшу редукцію вмісту білка, вільних амінокислот на окремих ділянках та суми ненасичених жирних кислот, що може свідчити про меншу стійкість та адаптивні можливості виду та більшу вірогідність пригнічення його розвитку при високих дозах техногенного забруднення.

Таблиця 5

Склад вільних жирних кислот (ГРХ-аналіз) у насінні клена та каштана з різних промислових ділянок м. Дніпропетровська

Зразок,	Компоненти ВЖК, %																	Σ _{нас.}
	C _{12:0}	C _{13:0}	C _{14:0}	C _{15:0}	C _{16:0}	C _{17:0}	C _{18:1}	C _{18:0}	C _{19:0}	C _{20:0}	C _{21:0}	C _{22:0}	C _{23:0}	C _{24:0}	C _{25:0}	Σ _{ненас.}		
район відбору																		
Насіння клена																		
- гостролистого,	сл.	сл.	сл.	сл.	13,66	сл.	79,66	сл.	1,42	сл.	сл.	0,28	2,28	0,42	2,28	79,66	20,34	
- ботанічний сад,																		
контроль																		
- шинний завод	1,35	сл.	0,89	0,89	16,14	сл.	72,31	сл.	сл.	0,22	1,01	сл.	4,72	0,22	2,24	72,31	27,69	
- завод пресів	1,10	сл.	сл.	1,47	10,75	сл.	72,78	сл.	сл.	0,74	1,40	сл.	9,00	2,76	сл.	72,78	27,22	
- річпорт	0,67	сл.	0,50	1,00	18,41	0,25	52,22	13,39	0,50	0,50	0,50	сл.	7,03	3,01	2,02	52,22	47,78	
Насіння каштана																		
кінського,																		
- ботанічний сад,	6,21	сл.	3,49	0,93	9,78	0,16	33,52	12,11	0,93	2,48	3,10	1,68	18,62	4,66	2,33	33,52	66,48	
контроль																		
- шинний завод	1,21	сл.	1,64	0,61	14,56	1,36	54,59	9,55	0,15	0,92	0,68	сл.	10,19	2,27	2,27	54,59	45,41	
- завод пресів	сл.	сл.	0,99	0,77	19,81	0,50	53,49	12,38	сл.	сл.	0,18	сл.	5,94	5,94	сл.	53,49	46,51	
- річпорт	0,61	сл.	0,81	0,46	12,22	1,02	65,19	10,19	сл.	1,22	3,06	сл.	4,40	0,82	сл.	65,19	34,81	

У цілому виявлена редуція вмісту білків, активація нейтральних протеїназ та зниження активності інгібіторів протеїназ могли свідчити про посилення гідролітичних процесів у насінні клена гостролистого та каштана кінського під впливом комплексного забруднення на різних ділянках м. Дніпропетровська (завод пресів, шинний завод, річпорт). Знайдене підвищення вмісту загальних ліпідів у насінні обох деревних порід з техногенних зон корелювало з пригніченням активності ферментів ліпідного обміну – ліпаз – при адаптації до антропогенного тиску. Виявлене підвищення рівня ненасиченості жирних кислот у насінні каштана могло свідчити також про активацію вільнорадикальних процесів, а зниження їх рівня у насінні клена гостролистого відбивало децю різну реакцію двох деревних порід на дію техногенного пресу. Визначені характерні зміни фізіолого-біохімічних показників білкового, амінокислотного та ліпідного обмінів у насінні деревних рослин при дії техногенного навантаження можна, напевно, надалі використовувати в якості біомаркерів антропогенного забруднення середовища у промисловому регіоні.

Бібліографічні посилання

1. Бессонова В. П. Цитофизиологические эффекты воздействия тяжелых металлов на рост и развитие растений. – Запорожье: ЗГУ, 1999.
2. Винниченко А. Н. Влияние гена опейк-2 на активность ингибиторов протеиназ из зерна кукурузы / А. Н. Винниченко, И. А. Филоник, В. С. Бильчук, В. В. Мосолов // Физиология и биохимия культурных растений. – 1988. – Т. 20, № 5. – С. 493–497.
3. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. – М., 1985.
4. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975.
5. Коршиков И. И. Взаимодействие растений с техногенно загрязненной средой. – К.: Наукова думка, 1995.
6. Коршиков И. И. Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. – К.: Наукова думка, 1996.
7. Практикум по биохимии // Под ред. С. Е. Северина. – М., 1989.
8. Філонік І. О. Вплив важких металів на склад та метаболізм ліпідів у зерні кукурудзи гібриду Дніпровський 310 на ранніх етапах розвитку / І. О. Філонік, В. М. Глубока, Л. Ф. Заморуєва, О. М. Вінниченко // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. 2000. – Вип. 8. – Т. 2. – С. 49–55.
9. Шихова Н. С. Аккумуляция тяжелых металлов древесными породами в условиях интенсивного техногенеза // Лесоведение. – 1997. – № 5. – С. 32–44.
10. Volea Valentin, Chira Devz // Forest Shav. and Landscape Res. – 2001. – Vol. 76. – № 3. – С. 420–424.
11. Fujimaki M., Arai S. Degradation of zeins during germination of corn // Agric. Biol. Chem. – 1977. – Vol. 41. – № 5. – P. 887–892.

Надійшла до редколегії 14.02.05