

ЭКОЛОГИЯ

УДК 581.19

П. А. Кузьмин, Е. В. Носырева

Казанский Федеральный Университет, Елабужский Институт, Елабуга, Россия

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И АКТИВНОСТИ МЕДЬСОДЕРЖАЩИХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ КАМСКОГО РЕГИОНА

Проанализирована активность медьсодержащих ферментов и содержание аскорбиновой кислоты в листьях рябины обыкновенной, представленной в зеленых насаждениях г. Елабуги, Набережных Челнов и Нижнекамска. Приведена характеристика степени загрязнения атмосферного воздуха в исследуемых городах. Выявлены изменения активности медьсодержащих ферментов и содержания аскорбиновой кислоты в листьях рябины обыкновенной в течение вегетационного периода. Получены результаты, свидетельствующие об активном участии аскорбиновой кислоты и медьсодержащих ферментов в адаптационных процессах у рябины обыкновенной в условиях техногенного стресса.

Ключевые слова: медьсодержащие ферменты; аскорбиновая кислота; рябина обыкновенная; антропогенное загрязнение.

P. A. Kuzmin, E. V. Nosyreva

Kazan Federal University, Yelabuga Institute, Elabuga, Russia Federation

A STUDY OF THE ASCORBIC ACID CONTENT AND ACTIVITY OF COPPER-CONTAINING ENZYMES IN LEAVES OF *SORBUS AUCUPARIA* L. IN THE CONDITIONS OF THE KAMA REGION

Analyzed the activity of copper-containing enzymes and content of ascorbic acid in the leaves of *Sorbus aucuparia* L., which is widely used in green spaces in the Kama region, which includes cities such as, Yelabuga, Naberezhnye Chelny and Nizhnekamsk. Given the characteristic of the degree of air pollution in the studied cities. Identified changes in the activity of copper-containing enzymes and content of ascorbic acid in the leaves of *Sorbus aucuparia* L. during the vegetation period. The results obtained show that ascorbic acid and copper-containing enzymes are active participants in adaptation processes in a *Sorbus aucuparia* L. ordinary in the conditions of technogenic stress.

Key words: copper-containing enzymes; ascorbic acid; *Sorbus aucuparia* L.; anthropogenic pollution.

Введение

Бурный рост автотранспорта ведет к значительному загрязнению природной среды, к изменению естественных процессов в биосфере, регулирующих перераспределение и консервацию различных веществ, в том числе вредных [Николаевский, 1979, 1999]. Повышенная устойчивость растений к городским условиям определяется способностью к изменению физиологических процессов, проявлением приспособлений, развившихся ранее для защиты от других экстремальных факторов природной среды [Фролов,

1998; Бухарина, Кузьмин, Шарифуллина, 2014; Bukharina et al., 2014, 2015].

Понижение содержания аскорбиновой кислоты в организме животных и растений приводит к возникновению у них стресса, понижению реактивности, а при достаточных ее дозах резко повышается устойчивость организма, его адаптационные способности к неблагоприятным воздействиям внешней среды, а также улучшаются процессы регенерации.

Одним из важных ферментов, участвующим в дыхании растений, является медьсодержащая полифенолоксидаза, которая, в свою очередь, показывает уровень гипоксии. Данный фермент актив-

но участвует в адаптивных реакциях растений на уровень загрязнения окружающей среды. Аскорбинатоксидаза катализирует реакцию окисления аскорбиновой кислоты (витамин С) в дегидроаскорбиновую [Кретович, 1980].

Способность аскорбиновой кислоты легко окисляться и восстанавливаться определяет ее физиологическую функцию. Известны факты, когда уровень аскорбиновой кислоты повышался при действии неблагоприятных факторов, что может быть опосредовано накоплением активных форм кислорода. Это, вероятно, связано с защитной функцией аскорбиновой кислоты, которая, выступая в роли восстановителя, повышает устойчивость растений. Следовательно, увеличение содержания аскорбиновой кислоты при действии факторов самой разнообразной природы (химических, биотехнологических, физических) можно рассматривать как неспецифическую реакцию, включенную в механизм защиты растений в неблагоприятных условиях [Кретович, 1980].

Функциональная роль аскорбиновой кислоты в метаболических процессах в основном была раскрыта в работе Ругге и Блюменфельд в 1965 г., которые показали, что окисление аскорбиновой кислоты происходит с образованием промежуточных продуктов ион-радикалов семихионного типа. Ими же было высказано предположение, что способность аскорбиновой кислоты отдавать электроны соответствующим акцепторам и образовывать ион-радикалы лежит в основе участия аскорбиновой кислоты в окислительно-восстановительных процессах, причем аскорбиновая кислота может участвовать в транспорте электронов и окислении пиридиновых коферментов растений [Ругге, Блюменфельд, 1965].

Полифенолоксидаза и аскорбинатоксидаза относятся к медьсодержащим протеидам. Антропогенное загрязнение окружающей среды приводит к увеличению содержания полифенолоксидазы и аскорбинатоксидазы. Более высокая активность полифенолоксидазы и аскорбинатоксидазы способствуют обезвреживанию антропогенных загрязнителей. В связи с этим мы поставили цель изучить содержание аскорбиновой кислоты и активность медьсодержащих ферментов в листьях рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) в условиях Камского региона РТ [Кузьмина, Носырева, Хозяматова, 2015].

Материалы и методы исследований

Исследование проводили в течение вегетационного периода в 2015 г. в Камском регионе, в г. Елабуга, Набережные Челны (Республика Татарстан) и Нижнекамск (Республика Башкортостан). Объектом исследования являлась рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.), которая широко

представлена в насаждениях разных экологических категорий.

Набережные Челны – крупный промышленный центр с населением 530 тыс. человек. Ключевым предприятием города является Камский автомобильный завод. Характеристика степени загрязнения атмосферного воздуха в местах произрастания древесных растений проведена нами на основе материалов «Доклада об экологическом состоянии Республики Татарстан» [О состоянии ..., 2015]. Комплексный индекс загрязнения атмосферы (ИЗА=15.3) характеризует состояние загрязнения атмосферного воздуха в городе как очень высокое. Установлено превышение уровня предельно допустимой концентрации по бенз(а)пирену, формальдегиду, фенолам, оксидам углерода и азоту. В санитарно-защитной зоне промышленных предприятий среднегодовое превышение ПДК отмечено по следующим веществам: оксид углерода – в 2 раза; оксиды азота – в 3 раза; диоксид серы – в 1.2 раза; формальдегид – в 5 раз; фенол – в 1.7 раза; бенз(а)пирен – в 1.9 раза. В зоне магистральных посадок среднегодовое превышение ПДК отмечено по следующим веществам: оксид углерода – в 3.4 раза; формальдегид – в 3.8 раз; фенол – в 1.4 раза; бенз(а)пирен – в 1.5 раза.

В г. Нижнекамске среднее за год содержание вредных веществ в атмосферном воздухе не превышало установленных норм. Зарегистрировано 136 случаев превышения ПДК м.р.: из них по фенолу – 92 превышения, по формальдегиду – 11, по аммиаку – 11, по диоксиду азота – 11 и по сероводороду – 4 превышения. Основными веществами, загрязняющими атмосферный воздух, являются оксиды азота, оксид углерода, твердые вещества. Наибольший вклад в загрязнение атмосферного воздуха г. Елабуги внесли предприятия следующих отраслей (в %): энергетической – 36.6; строительной – 14.7; топливной – 8.7; пищевой – 12.6 [О состоянии ..., 2015].

Пробные площади (ПП) размером не менее 0.25 га закладывали регулярным способом (по 5 ПП в каждом насаждении).

В пределах пробных площадей для изучения физиолого-биохимических показателей рябины обыкновенной были проведены отбор, нумерация и оценка жизненного состояния не менее 10 особей. Учетные особи имели хорошее жизненное и средневозрастное генеративное онтогенетическое состояния (g_2). В период активной вегетации, т.е. июне, июле и августе у учетных особей проводили отбор проб листьев срединной формации на годичном вегетативном побеге (с нижней трети участка кроны южной экспозиции) [Коровкин, 2007].

Для нашего исследования мы выбрали следующие зоны: магистральные посадки (различные проспекты и улицы), зону условного контроля

(парки) и санитарно-защитную зону (на территориях различных предприятий). В лабораторных условиях определяли активность аскорбинатоксидазы по методу, предложенному Д.К. Асамовым, С.Т. Рахимовой [Ермаков и др., 1987], который основан на свойстве аскорбиновой кислоты поглощать свет с максимумом при длине волны 265 нм. Об активности фермента судили по уменьшению величины оптической плотности, учитывая, что степень окисления аскорбиновой кислоты пропорциональна количеству фермента. Активность полифенолоксидазы определяли спектрофотометрическим методом, который основан на измерении оптической плотности продуктов реакции, образующихся при окислении пирокатехина за определенный промежуток времени. Количественное содержание аскорбиновой кислоты определяли по ГОСТу 24556-89. Для каждой особи анализы проводили трехкратно. При проведении дисперсион-

ного анализа результаты исследования усреднялись по насаждениям сходных экологических категорий. Обработку материалов провели с применением статистического пакета «Statistica 5.5». Для анализа полученных данных использовали методы описательной статистики и дисперсионный многофакторный анализ, с последующей оценкой различий методом множественного сравнения (LSD-test).

Результаты и их обсуждение

Дисперсионный многофакторный анализ результатов исследований в 2015 г. выявил достоверность влияния комплекса условий места произрастания (уровень значимости $P < 10^{-5}$), на активности полифенолоксидазы, аскорбинатоксидазы и содержания аскорбиновой кислоты в листьях рябины обыкновенной (таблица).

Содержание аскорбиновой кислоты и активность медьсодержащих ферментов в листьях рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) в различных функциональных зонах Камского региона

Город	Тип насаждения	Показатель		
		Аскорбиновая кислота, мг/%	Активность аскорбинатоксидазы, ед. акт.	Активность полифенолоксидазы, ед. акт.
Елабуга	ЗУК	194.3	4.30	4.32
	СЗЗ	149.6	6.56	17.39
	МП	121.5	8.35	13.45
Набережные Челны	ЗУК	199.3	4.82	3.75
	СЗЗ	129.1	7.38	11.43
	МП	117.3	9.11	16.39
Нижнекамск	ЗУК	209.6	5.37	2.67
	СЗЗ	128.5	7.92	16.44
	МП	134.3	6.52	15.87
НСР ₀₅		8.6	0.04	0.08

Примечание. ЗУК – зона условного контроля, СЗЗ – санитарно-защитная зона предприятия, МП – магистральная посадка.

Содержание аскорбиновой кислоты в листьях рябины обыкновенной, произрастающей в условиях антропогенного стресса в зонах промышленных предприятий и магистральных насаждений было ниже в Елабуге на 44.7–72.8 мг/%, в Набережных Челнах на 70.2–82 мг/% и в Нижнекамске на 75.3–81.1 мг/%, по сравнению с этим показателем в зоне условного контроля, при НСР₀₅=8.6 мг/%. Уменьшение содержания аскорбиновой кислоты в листьях рябины обыкновенной во всех городах Камского региона в техногенной среде свидетельствует о снижении активности окислительно-восстановительных процессов в растительном организме.

В течение всего периода вегетации у особей рябины обыкновенной, произрастающих в условиях антропогенной нагрузки, отмечается повышение активности медьсодержащих ферментов.

Так, в санитарно-защитных зонах и примыкающих насаждениях у особей активность аскорбинатоксидазы выше в Елабуге на 2.26–4.05 ед. акт., в Набережных Челнах на 2.56–4.29 ед. акт., в Нижнекамске на 1.15–2.55 ед. акт., в сравнении с аналогичным показателем в контрольном варианте, при НСР₀₅=0.04 ед. акт.

Активность полифенолоксидазы у особей в техногенной среде значительно выше в Елабуге на 9.13–13.07 ед. акт., в Набережных Челнах на 7.68–12.64 ед. акт., в Нижнекамске на 13.2–13.77 ед. акт., чем в зоне условного контроля, при НСР₀₅=0.08 ед. акт.

Повышение активности полифенолоксидазы, по-видимому, является своеобразной реакцией клеток на возрастание потребности в дыхании, вызванной высоким содержанием пылевых частиц и других поллютантов, препятствующих нормальному газообмену листьев растений.

О.Н. Макурина и С.А. Розина [2012] проводили исследование активности аскорбинатоксидазы и полифенолоксидазы в тканях растения роголистника погруженного (*Ceratophyllum demersum* L.). Было выявлено прямое воздействие поллютанта и косвенное воздействие ксенобиотиков на молекулы ферментов. Таким образом, потребность в дыхании и борьба с активной формой кислорода стимулируют повышение активности аскорбинатоксидазы и полифенолоксидазы.

Аналогичные исследования придорожных растений в качестве биоиндикаторов загрязнения воздуха в городах были проведены в Индии А.П. Дипалакшми, Х. Рамакришнаях, Ю.Л. Рамачандра и Р.Н. Радхика. Ими было отмечено снижение содержания аскорбиновой кислоты у всех изученных видов придорожных растений, что говорит о снижении у них активности окислительно-восстановительных процессов [Deepalakshmi et al., 2013].

Заключение

Таким образом, аскорбиновая кислота и медь-содержащие ферменты, на наш взгляд, являются активными участниками адаптационных процессов у рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) в условиях техногенного стресса.

Библиографический список

- Бухарина И.Л., Кузьмин П.А., Шарифуллина А.М. Содержание низкомолекулярных органических соединений в листьях деревьев при техногенных нагрузках // Лесоведение. 2014. № 2. С. 20–26.
- Ермаков А.И. и др. Методы биохимического исследования растений. Л., 1987. 429 с.
- Коровкин О.А. Анатомия и морфология высших растений: словарь терминов. М.: Дрофа, 2007. 272 с.
- Кретович В. Л. Биохимия растений: учебник для биол. факультетов ун-тов. М.: Высш. школа, 1980. 445 с.
- Кузьмина А.М., Носырева Е.В., Хозяихматова З.Р. Анализ активности полифенолоксидазы в листьях растений различных насаждений // Материалы Всерос. науч.-практ. конф. Ижевск, 2015. С. 45–48.
- Макурина О.Н., Розина С.А. Влияние ксенобиотиков на ферментативную активность в тканях водного погруженного растения *Ceratophyllum demersum* // Вестник Самарского ГУ. Естественная серия. 2012. № 9 (100). С. 200–210.
- Николаевский В.С. Биологические основы газоустойчивости растений. Новосибирск: Наука, 1979. 278 с.

- Николаевский В.С. Экологическая оценка загрязнения среды и состояния экосистем методами фитоиндикации: учеб. пособие. М., 1999. 193 с.
- О состоянии природных ресурсов и об охране окружающей среды Республики Татарстан в 2014 г.: государственный доклад. Казань, 2015. 467 с.
- Ругге Э.К., Блюменфельд Л.А. Свободные радикалы аскорбиновой кислоты, возникающие при взаимодействии с белками // Биофизика. 1965. № 10. С. 689–695.
- Фролов А. К. Окружающая среда крупного города и жизнь растений в нем. СПб.: Наука, 1998. 328 с.
- Bukharina I.L. et al. Physiological and Biochemical Characteristic Features of Small-Leaved Lime (*Tilia Cordata* Mill.) in Urban Environment // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2014. № 5(5). P. 1544–1548.
- Bukharina I.L. et al. The Impact of Man-made Environment on the Ecological and Biological Characteristics of Drooping Birch // Biosciences biotechnology research Asia. 2015. Vol. 12(2). P. 1813–1820.
- Deepalakshmi A.P. et al. Roadside Plants as Bioindicators of Urban Air Pollution // IOSR Journal Of Environmental Science. Toxicology And Technology. 2013. Vol. 3, Iss. 3. P. 10–14.

References

- Bukharina I.L., Kuzmin P.A., Sharifullina A.M. [The content of low molecular weight organic compounds in the leaves of the trees under anthropogenic stress]. Lesovedenie, N 2 (2014): pp. 20-26. (In Russ.).
- O sostojanii prirodnykh resursov i ob ochrane okruzhajushej sredy Respubliki Tatarstan [On state of natural resources and environmental protection of the Republic of Tatarstan in 2014. State report]. Kazan, 2015. 467 p. (In Russ.).
- Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P., Peruvian Y.V., Iukovnikova G.A., Ikonnikova M.A. *Metody biohimičeskogo issledovanija rastenij* [Methods for biochemical study of plants]. Leningrad, 1987. 429 p. (In Russ.).
- Korovkin O.A. *Anatomija i morfologija vysšich rasenij* [Anatomy and morphology of higher plants. The dictionary of terms]. Moscow, Drofa Publ., 2007. 272 p. (In Russ.).
- Kretovich V.L. *Biohimiija rastenij* [Biochemistry of plants: a Textbook]. Moscow, Vysšaja škola Publ., 1980. 445 p. (In Russ.).
- Kuzmina M.A., Nosyрева E.V., Khaziakhmetova Z.R. [Analysis of the activity of polyphenol oxidase in the leaves of plants in different plantings]. *Materialy Vserossijskoj naučno-praktičeskoj konferencii* [Materials of all-Russian scientific-practical conference]. Izhevsk, 2015, pp. 45-48. (In Russ.).
- Makurina O.N., Rozina S.A. [Influence of xenobiotics on the enzymatic activity in the tissues of aquatic submerged plant *Ceratophyllum demersum*]. *Vestnik Samarskogo gosudarstvennogo universiteta. Estest-*

- vennaja serija*, N 9(100) (2012): pp. 200-210. (In Russ.).
- Nikolaevskiy V.S. *Ėkologiĉeskaja ocenka zagryznenija sredy i sostojanija ėkosistem metodami fitoindikacii* [Ecological assessment of environmental pollution and the state of ecosystems methods of phytoindication]. Moscow, 1999. 193 p. (In Russ.).
- Nikolaevskiy V.S. *Biologiĉeskie osnovy gazoustojĉivosti rastenij* [Biological basis of gotostatement plants]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1979. 278 p. (In Russ.).
- Rugge E.K., Blumenfeld L.A. [Free radicals ascorbic acid arising from the interaction with proteins]. *Biofizika*, N 10 (1965): pp. 689-695. (In Russ.).
- Frolov A.K. *The environment of a large city and the life of plants* [Text]/ A. K. Frolov - SPb.: Science, 1998. 328 p. (In Russ.).
- Bukharina I.L., Zhuravleva A.N., Dvoeglazova A.A., Kamasheva A.A., Sharifullina A.M., Kuzmin P.A. *Physiological and Biochemical Characteristic Features of Small-Leaved Lime (Tilia Cordata Mill.) in Urban Environment. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, N 5(5) (2014): pp. 1544-1548.
- Bukharina I.L., Sharifullina A.M., Kuzmin P.A., Zakharchenko N.V., Gibadulina I.I. *The Impact of Man-made Environment on the Ecological and Biological Characteristics of Drooping Birch. Biosciences biotechnology research Asia*, V. 12(2) (2015): pp. 1813-1820.
- Deepalakshmi A.P., Ramakrishnaiah H., Ramachandra Y.L., Radhika R.N. *Roadside Plants as Bio-indicators of Urban Air Pollution. IOSR Journal of Environmental Science. Toxicology And Technology*, V. 3, Iss. 3 (2013): pp. 10-14.

Поступила в редакцию 30.11.2016

Об авторах

Кузьмин Петр Анатольевич, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры биологии и химии
Елабужский институт ФГАОУ ВО «Казанского (Приволжского) Федерального Университета»
ORCID: 0000-0002-1303-765X
423600, РТ, г. Елабуга, ул. Горького, 84;
petrkuzmin@yandex.ru; (85557)75455

Носырева Елена Владимировна, студентка факультета математики и естественных наук
Елабужский институт ФГАОУ ВО «Казанского (Приволжского) Федерального Университета»
ORCID: 0000-0002-4871-4657
423600, РТ, г. Елабуга, ул. Горького, 84;
nosyrevaelena95@mail.ru; (85557)75455

About the authors

Kuzmin Petr Anatolyevich, candidate of agricultural sciences, associate professor of the Department of biology and chemistry
Elabuga Institute of Federal STATE Autonomous educational institution "Kazan (Volga) Federal University"
ORCID: 0000-0002-1303-765X
423600, RT, Elabuga, Gorkogo str., 84;
petrkuzmin@yandex.ru; (85557)75455

Nosyreva Elena Vladimirovna, student faculty of mathematics and natural Sciences
Elabuga Institute of Federal STATE Autonomous educational institution "Kazan (Volga) Federal University"
ORCID: 0000-0002-4871-4657
423600, RT, Elabuga, Gorkogo str., 84;
nosyrevaelena95@mail.ru; (85557)75455

