

О.Є. ІВАНЧЕНКО, В.П. БЕЗСОНОВА  
Запорізький державний університет  
вул. Жуковського, 66, Запоріжжя, 69063, Україна

## АКТИВНІСТЬ НІТРАТРЕДУКТАЗИ ЯК ІНДИКАТОРА ЗАБРУДНЕННЯ ДОВКІЛЛЯ

*Ключові слова:* декоративні квіткові рослини, надлишок  $Fe^{2+}$  та  $Cr^{3+}$ , активність нітратредуктази, біоіндикація.

Важкі метали є найтоксичнішими інгредієнтами викидів електromеталургійних і машинобудівних підприємств [12]. Серед цих полутантів вагоме місце займають сполуки заліза та хрому, що негативно впливають на ріст й розвиток рослин [1, 3]. Вони потрапляють до рослинного організму і гальмують його метаболічні процеси. За біохімічними і фізіологічними реакціями на антропогенні стресори можна відстежувати зміну активності деяких ферментів [5]. З цією метою в екологічних дослідженнях використовують такі ензими, як глюкозо-6-фосфатгедрогеназа [16, 18], супероксиддисмутаза [17], пероксидаза [13], ферменти амінокислотного обміну — глутаматоксалацетаттрансаміназу, глутаматгедрогеназу та ін. [15]. Нітратредуктаза (НР) є ключовим ферментом асиміляції нітрату [10, 11]. На його активність впливають різні екологічні фактори, у тім числі й важкі метали [6].

Суттєвий інтерес становить вивчення можливостей використання декоративних квіткових рослин, що широко застосовуються для озеленення промислових підприємств з урахуванням їх санітарно-гігієнічних та естетичних функцій, як тест-об'єктів для біоіндикації забруднення довкілля [2]. Мета цієї роботи — вивчити можливість використання змін активності НР у листках для біоіндикації забруднення навколишнього середовища і пошук чутливих тест-об'єктів для моніторингових досліджень.

### Матеріал і методи досліджень

Об'єктами досліджень були декоративні квіткові рослини *Begonia x semperflorens* L., *Calendula officinalis* L., *Lathyrus odoratus* L., *Impatiens balsamina* L., *Petunia x hybrida* Hort., *Antirrhinum majus* L., *Tagetes patula* L., *Xeranthemum annuum* L., які характеризуються різною чутливістю до надлишку заліза та хрому у середовищі вирощування [4, 7] і знаходилися на ділянках території електromеталургійного заводу з різним рівнем забруднення ґрунту пріоритетними токсикантами — сполуками заліза і хрому. Валова кількість заліза у ґрунті (0—20 см) на 1-й ділянці становила  $5,1 \pm 0,29\%$ , на 2-й —  $7,6 \pm 0,30$ , на 3-й —  $9,7 \pm 0,26\%$ . Вміст хрому, відповідно, —  $201,3 \pm 4,16$ ;  $260,1 \pm 5,4$  і  $340,3 \pm 5,2$  мг/кг абсолютноно сухого ґрунту. Вміст заліза у ґрунті контрольної ділянки становив  $3,20 \pm 0,40\%$ , хрому —  $78,3 \pm 2,2$  мг/кг.

© О.Є. ІВАНЧЕНКО, В.П. БЕЗСОНОВА, 2004

Відомо, що техногенні сполуки металів більш доступні і токсичні для рослин, ніж природні. Кількість таких важких металів, як свинець, марганець і цинк у ґрунті дослідних ділянок дещо підвищений порівняно з контролем, але не досягає токсичних для рослин концентрацій. Нітратредуктазну активність визначали у візуально непошкоджених частинах листків другого ярусу за методикою Мульдера [9]. Результати експерименту статистично оброблені [8].

### Результати досліджень та їх обговорення

Для порівняння ступеня впливу забруднення довкілля на активність НР у листках різних видів декоративних квіткових рослин досліджували рослини із зон з різним рівнем забруднення. Встановлено, що ступінь гальмування активності ферменту досліджених видів був різним. Найбільше вона пригнічується у *Begonia x semperflorens*, *I. balsamina* і *L. odoratus* (таблиця): активність ензиму на другій і третій дослідних ділянках у відсотках до контролю нижча за 60,0 %. У зоні середнього забруднення вона становить 53,6; 51,8 і 58,6 %, сильного забруднення — 49,3; 38,9 і 45,2 %, відповідно. Значне інгібування активності НР на дослідних ділянках спостерігали також у листках *C. officinalis*. А найменшими були зміни цього показника у таких видів, як *X. annuum* і *A. majus*.

Як видно з таблиці, у досліджених видів виявлено зниження ферментативної активності з підвищенням рівня забруднення. Проте рівень інгібування НР залежно від ступеня забруднення довкілля неоднаковий (рис. 1). Так, у *X. annuum* та *A. majus* зниження активності НР спостерігали лише на 2-й і 3-й ділянках. При низькому рівні забруднення (1-ша ділянка) активність ферменту не змінювалася порівняно з контролем. Різниця між контрольними і дослідними значеннями була статистично недостовірною. До того ж рівень зниження активності НР у цих видів на 2-й і 3-й ділянках був близьким. В усіх дослідних варіантах ферментативна активність у листках *Petunia x hybrida* була нижчою за контрольні величини, проте підвищення рівня забруднення

**Вплив рівня забруднення довкілля сполуками заліза та хрому на активність НР (липень, мкг\*г сирої маси за 1 год)**

Вид	Контроль	1-ша ділянка	t	2-га ділянка	t	3-тя ділянка	t
<i>Begonia x semperflorens</i>	6,9 ± 0,24	4,6 ± 0,2	7,41	3,7 ± 0,12	12,3	3,4 ± 0,22	10,93
<i>Impatiens balsamina</i>	5,4 ± 0,21	3,8 ± 0,25	5,0	2,8 ± 0,19	7,42	2,1 ± 2,2	11,78
<i>Calendula officinalis</i>	12,3 ± 0,5	8,9 ± 0,36	5,57	7,6 ± 0,24	8,54	6,7 ± 0,37	9,03
<i>Lathyrus o doratus</i>	10,4 ± 0,48	7,9 ± 0,3	4,46	6,1 ± 0,29	7,67	4,7 ± 0,24	10,75
<i>Antirrhinum majus</i>	8,3 ± 0,27	7,7 ± 0,3	1,5	7,1 ± 0,2	3,63	6,5 ± 0,22	5,29
<i>Petunia x hybrida</i>	7,3 ± 0,46	5,7 ± 0,19	3,4	5,3 ± 0,11	4,25	5,0 ± 0,2	4,6
<i>Tagetes patula</i>	14,3 ± 0,31	12,3 ± 0,22	5,26	10,9 ± 0,24	8,71	10,1 ± 0,24	10,76
<i>Xeranthemum annuum</i>	11,1 ± 0,35	12,4 ± 0,4	2,35	9,4 ± 0,22	4,14	8,8 ± 0,28	5,22

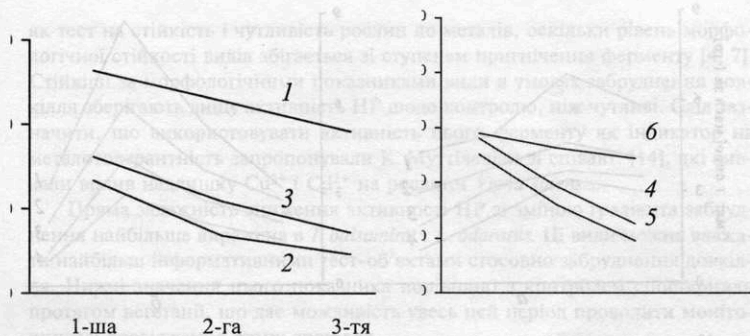
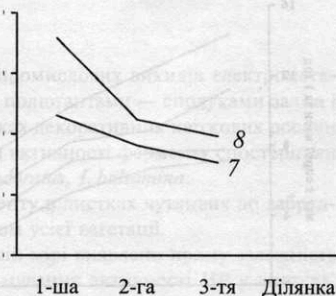


Рис. 1. Вплив рівня забруднення довкілля сполуками заліза і хрому на активність НР (% до контролю): а — ділянка 1, б — ділянка 2, в — ділянка 3; 1 — *Antirrhinum majus*, 2 — *Begonia x semperflorens*, 3 — *Calendula officinalis*, 4 — *Lathyrus odoratus*, 5 — *Impatiens balsamina*, 6 — *Petunia x hybrida*, 7 — *Tagetes patula*, 8 — *Xeranthemum annuum*

Fig. 1. The influence of a level of environmental pollution by combination iron and chromes on activity of a nitrate reductase ( $\text{mkg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ dry mass hour}^{-1}$ ): а — area 1, б — area 2, в — area 3; 1 — *Antirrhinum majus*, 2 — *Begonia x semperflorens*, 3 — *Calendula officinalis*, 4 — *Impatiens balsamina*, 5 — *Petunia x hybrida*, 6 — *Xeranthemum annuum*, 7 — *Lathyrus odoratus*, 8 — *Tagetes patula*



істотно не змінювало активність НР у листках рослин 1, 2 і 3-ї дослідних ділянок. Найпропорційніше її зниження при збільшенні вмісту заліза і хрому у ґрунті встановлено в *I. balsamina* та *L. odoratus* (рис. 1).

Щоб виявити придатність використання змін активності НР для біоіндикації забруднення довкілля, проаналізували динаміку його активності протягом вегетації у видів, чутливих за даним показником до надлишку заліза і хрому в ґрунті (рис. 2). Встановлено, що у контрольному варіанті у таких видів, як *B. x semperflorens*, найбільша активність ферменту виявлена у червні, у *I. balsamina* і *L. odoratus* — у липні. У листках *C. officinalis* найвищим цей показник був у травні. У рослин з дослідних ділянок активність НР була нижчою за показники у відносно чистій зоні в усі місяці вегетації. У таких видів як, *B. x semperflorens* та *I. balsamina*, активність ферменту порівняно з контролем найбільше знижувалася в серпні. У листках *C. officinalis* порівняно з рослинами з умовно чистої зони цей показник сильніше знижувався на початку вегетації, потім (липень) рівень інгібування активності НР ставав меншим і знову підвищувався наприкінці вегетації (рис. 2). У листках *L. odoratus*

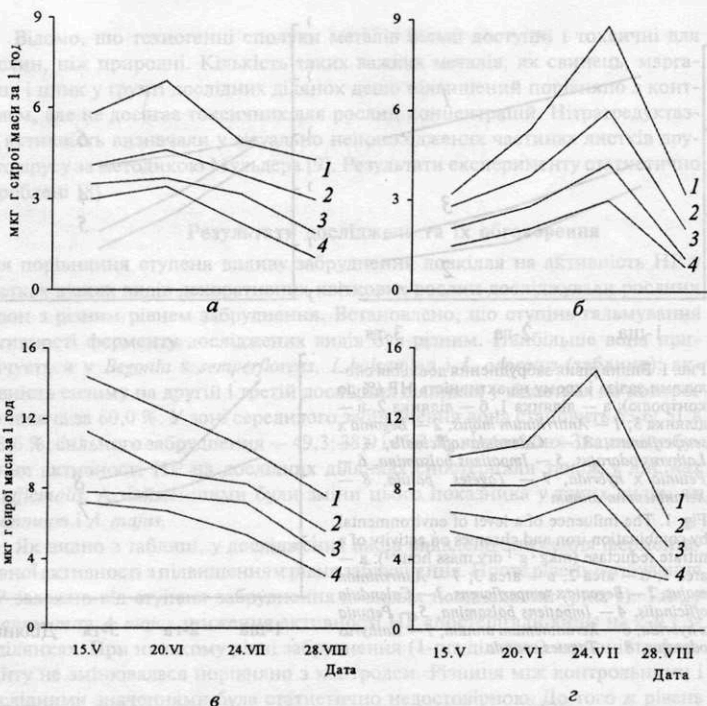


Рис. 2. Зміни активності НР у листках декоративних квіткових рослин у процесі вегетації, мкг · г<sup>-1</sup> сирової маси за 1 год: 1 — *Begonia x semperflorens*, 2 — *Impatiens balsamina*, 3 — *Calendula officinalis*, 4 — *Lathyrus odoratus*; а — контроль, б — перша ділянка, в — друга, г — третя ділянка

Fig. 2. The changes of nitrate reductase in the leaves of the ornamental flower plants in vegetation process, mkg · g<sup>-1</sup> damp mass hour<sup>-1</sup>: 1 — *Begonia x semperflorens*, 2 — *Impatiens balsamina*, 3 — *Calendula officinalis*, 4 — *Lathyrus odoratus*; а — control, б — area 1, в — area 2, г — area 3

активність ензиму найменше пригнічувалася на початку вегетації, а в наступні місяці гальмування активності щодо контролю спостерігали у близьких межах. Таким чином, незважаючи на видову специфіку ступеня пригнічення активності НР у листках за місяцями вегетації, в усі строки спостерігали істотні відмінності від контрольних значень.

Отже, забруднення довкілля (пріоритетні інгредієнти промислових викидів — сполуки заліза і хрому) призводить до гальмування активності НР у листках декоративних квіткових рослин, найістотніше — у *B. x semperflorens*, *I. balsamina*, *C. officinalis* і *L. odoratus*. Активність НР можна використовувати

як тест на стійкість і чутливість рослин до металів, оскільки рівень морфологічної стійкості видів збігається зі ступенем пригнічення ферменту [4, 7]. Стійкіші за морфологічними показниками види в умовах забруднення довкілля зберігають вищу активність НР щодо контролю, ніж чутливі. Слід зазначити, що використовувати активність цього ферменту як індикатор на металотолерантність запропонували К. Муттічеліан зі співавт. [14], які вивчали вплив надлишку  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Cd}^{2+}$  на рослини *Vigna sinensis*.

Пряма залежність зниження активності НР зі зміною градієнта забруднення найбільше виражена в *I. balsamina* і *L. odoratus*. Ці види можна вважати найбільш інформативними тест-об'єктами стосовно забруднення довкілля. Нижчі значення цього показника порівняно з контролем спостерігали протягом вегетації, що дає можливість увесь цей період проводити моніторингові дослідження стану довкілля.

### Висновки

1. Забруднення довкілля інгредієнтами промислових викидів електрометалургійних підприємств із пріоритетними поліюгантами — сполуками заліза і хрому — пригнічує активність НР у листках декоративних квіткових рослин порівняно з контролем. Найбільші зміни активності ферменту спостерігали у *Begonia x semperlorens*, *C. officinalis*, *L. odoratus*, *I. balsamina*.
2. Істотне гальмування активності ферменту в листках чутливих до забруднення видів рослин спостерігали протягом усєї вегетації.
3. У *L. odoratus* та *I. balsamina* в найбільшій мірі виявлено пряму залежність між рівнем забруднення і ступенем гальмування активності НР у листках, що робить їх найінформативнішими тест-об'єктами для біоіндикації забруднення довкілля.

1. Алексеев Ю. В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. — Л.: Агропромиздат, 1987. — 142 с.
2. Безсонова В. П., Фендюк Л. М. Возможности використання декоративних квіткових рослин для фітоіндикації забруднення навколишнього середовища. Вміст зелених пігментів // Укр. ботан. журн. — 1996. — 53, № 3. — С. 319—324.
3. Безсонова В. П., Іванченко О. Є. Зміна поглинальної діяльності коренів інтродукованих квіткових рослин в умовах забруднення ґрунту сполуками заліза та хрому // Інтродукція рослин. — 2002. — № 2/3. — С. 133—139.
4. Безсонова В. П., Фендюк Л. М., Іванченко О. Є. Оцінка стану асиміляційної поверхні декоративних квіткових рослин при надлишку заліза та хрому у навколишньому середовищі // Питання біоіндикації та екології. — 2003. — 8, № 2. — С. 51—73.
5. Биоиндикация загрязнений наземных экосистем / Под ред. Р. Шуберта. — М.: Мир, 1988. — 350 с.
6. Іванченко О. Є. Вплив надлишкових концентрацій заліза та хрому на активність нітратредуктази в листках і коренях *Petunia x hybrida* // Питання біоіндикації та екології. — 2003. — 8, № 1. — С. 50—59.
7. Іванченко О. Є., Яковлева С. О., Безсонова В. П. Оцінка металостійкості проростків декоративних квіткових рослин і вмісту у коренях білка та розчинних пектинів // Питання біоіндикації та екології. — 2002. — 6, № 3. — С. 46—53.
8. Лакшн Ф. Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
9. Пашков Б. П. Практикум по биохимии растений. — Киев: Наук. думка, 1976. — 334 с.

10. *Beevers L., Hageman R.H.* Nitrate reduction in higher plants // *Annu. Rec. Plant Physiol.* — 1969. — 20. — P. 495.
11. *Beevers L.* Nitrogen metabolism in plants. — London, 1976. — P. 121—129.
12. *Costescu L.M., Huichinson T.S.* The ecological consequences of soil pollution by metallic dust from the sudbury smelters // *Environmental progress in science and education.* — New York, 1972. — P. 540—545.
13. *Grill D., Esterbauer H., Birkner M.* Untersuchungen under die Peroxidaseaktivitat in Larchennadeln // *Beitr. Biol. Pflanz.* — 1980. — 55. — S. 67—76.
14. *Muthuchelian K., Ram S.M.V., Patival K.* Diferent action of  $Cu^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  on chlorophyll biosynthesis and nitrate reductase activity in *Vigna sinensis* L. (Sevi) // *Ind. J. Plant. Physiol.* — 1989. — 31, N 2. — P. 169—173.
15. *Pahllich W.* Sind die multiplen Formen der Glutamatdchydrogenase aus Erbsenkeimlingen Conformer? // *Planta.* — 1972. — 104. — P. 78—88.
16. *Rabe R., Kreeb K.H.* Wirkungen von  $SO_2$  auf die Enzymaktivitat in Pflanzenblättern // *Z. Pflanzenphysiol.* — 1980. — 97. — S. 261—263.
17. *Tanaka K., Sugahara K.* Role of superoxide dismutase in the defense against  $SO_2$  toxicity and induction of superoxide dismutase with  $SO_2$  fumigation // *Rep. Nate. Environ. Stud. (Japan).* — 1980. — 11. — P. 155—164.
18. *Tingey D.T.* Ozone induced alteration in the metabolite pools and enzyme activities of plants // *Air Pollution Effect on Plant Growth / Ed. by M. Dugger.* — Washington: Amer. Chem. Soc., Symp. Ser. 3. — 1974. — P. 40—57.

Рекомендує до друку  
Є.Л. Кордюм

Надійшла 17.05.2004

*О.Е. Иванченко, В.П. Бессонова*

Запорожский государственный университет

#### АКТИВНОСТЬ НИТРАТРЕДУКТАЗЫ КАК ИНДИКАТОРА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Изучали влияние избытка железа и хрома на активность нитратредуктазы в листьях декоративных цветочных растений как показатель загрязнения окружающей среды. Загрязнение среды обитания растений соединениями железа и хрома угнетает активность нитратредуктазы в листьях растительных объектов относительно контроля. У *L. odoratus* и *I. balsamina* отмечена наиболее прямая зависимость между уровнем загрязнения и степенью угнетения активности нитратредуктазы в листьях, что делает их наиболее информативными тест-объектами для биоиндикации загрязнения окружающей среды.

*V.P. Bessonova, O.E. Ivanchenko*

Zaporozhzhye State University

#### ACTIVITY OF A NITRATE REDUCTASE AS THE INDICATOR OF ENVIRONMENTAL POLLUTION

The influence of excess iron and chromes on activity of a nitrate reductase in leaves of ornamental flower plants, as indicator of environmental has been studied. Environmental pollution of medium by combination iron and chromes oppresses activity of a nitrate reductase in leaves of vegetative organs compare with control. For *L. odoratus* L. and *I. balsamina* L. the direct relation between a level of contamination and degree of depressing of activity a nitrate reductase in leaves is scored most, that makes by their most informative test-objects for bioindication of environmental pollution.