

**АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ ФТОРИДАМИ
И СУЛЬФИТАМИ**

А.В. ГУСАК, А.В. ЧАЙКА

ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», Донецк (alexander.v.chaika@gmail.com)

**PEROXIDASE ACTIVITY OF *CALENDULA OFFICINALIS*
UNDER FLUORIDES AND SULPHITES SOIL CONTAMINATION**

A.V. GUSAK, A.V. CHAIKA

SEI HPE «Donetsk National University», Donetsk (alexander.v.chaika@gmail.com)

Резюме. В работе приведены данные о влиянии загрязнения почвы фторидами и сульфитами на активность пероксидазы проростков календулы лекарственной. Установлено достоверное изменение активности пероксидазы исследуемого растения в условиях загрязнения почвы.

Ключевые слова: пероксидаза, *Calendula officinalis* L., фториды, сульфиты.

Abstract. The paper deals with the data on the effect of fluoride and sulfite soil pollution on the peroxidase activity of *Calendula officinalis* L. A significant change in the peroxidase activity of the plant in conditions of soil contamination has been established.

Key words: peroxidase, *Calendula officinalis* L., fluorides, sulfites.

В последние десятилетия во всём мире резко возросло влияние человека на окружающую среду. По мере развития промышленности решающее влияние приобрели техногенные факторы, которые оказались более мощными, чем природные. Происходит загрязнение окружающей среды промышленными и бытовыми отходами, что приводит к необратимым негативным последствиям в биосфере.

Атмосферное загрязнение оказывает как прямое воздействие на растения, так и косвенное – через почву, в результате чего нарушается снабжение растений питательными веществами из-за повышения кислотности почвы и накопления в ней загрязняющих веществ [Таранков, 2000].

Важнейшее значение почвы как компонента биосферы состоит в аккумуляровании органического вещества, различных химических элементов и энергии. Почвенный покров выполняет функции биологического поглотителя, разрушителя и нейтрализатора загрязнений различного рода. Поверхность почвы поглощает атмосферные примеси, поступающие в наземные экосистемы. Почвы, и особенно их глинистые и органические коллоидные компоненты, служат превосходными сорбентами токсичных веществ, в частности, тяжёлых металлов [Таранков, 2000]. Повышенное содержание в почве тяжёлых металлов служит причиной их накопления в тканях различных органов растений, вызывая различные физиологические повреждения [Илькун, 1978]. Нарушение химического равновесия,

вызванное избыточным поступлением загрязняющих веществ, отражается на водно-физических свойствах почвы: разрушается структура, уменьшается порозность и водопроницаемость, увеличивается плотность, на поверхности образуется корка. Это сопровождается угнетением микробиологических процессов в гумусовом горизонте и потерей плодородия почвы [Шебалова, 1999]. В сельском хозяйстве это может привести к снижению урожая и качества получаемой продукции овощных, зерновых, плодовых культур.

Особое место среди загрязнителей окружающей среды нашего промышленного региона занимают предприятия угольной промышленности, металлургии, коксохимии и машиностроения. Для Донца приоритетными веществами, загрязняющими атмосферный воздух, являются: пыль, диоксид азота, диоксид серы, оксид углерода, формальдегид, фенол, аммиак, тяжёлые металлы. Больше всего влияют на изменение земель и почв процессы техногенного воздействия, которые связаны с промышленной и сельскохозяйственной деятельностью, транспортом и урбанизацией территорий [Лукияченко, 2006].

Соединения серы (сульфаты и сульфиты) участвуют в формировании химического состава почв, в значительных количествах находятся в подземных водах, а это, в свою очередь, играет решающую роль в процессах засоления почв. При определённых условиях происходят превращения соединений серы, которые впоследствии отнимают воду из почвенной среды, мобилизация тяжёлых металлов и других токсикантов, тем самым влияя на свойства почвы и нарушая её плодородие [Грушко, 1987].

Фтор присутствует в окружающей среде главным образом в виде фтористого водорода, фторидов металлов и газообразного фтора. Фтористый водород и плохо растворимые фториды относятся к первому классу опасности в почве и второму классу опасности в воде [Савченко, 2011]. Под влиянием фторида натрия происходит изменение кислотности и окислительно-восстановительных условий гумусообразования: увеличивается подвижность гумусовых кислот и их производных, уменьшается содержание прочно связанных с минеральной частью форм, что в наибольшей степени проявляется в дерново-подзолистой почве, в меньшей – чернозёме [Гапонов, 1992]. Активизируются процессы биохимического превращения органического вещества, но потенциальная возможность почвы к гумусонакоплению снижается. Указанные изменения состояния гумусовых соединений в почве под действием фтористого натрия создают опасность увеличения их миграционной способности, выноса за пределы почвенного профиля, минерализации, что приведёт к обеднению почв гумусом и снижению их плодородия. Фтор влияет на метаболизм растений и способен вызывать снижение темпов поглощения кислорода, расстройств респираторной деятельности, снижение ассимиляции питательных веществ, уменьшение содержания хлорофилла, подавление синтеза крахмала, разрушение ДНК и РНК [Грушко, 1987]. Исследованиями Т.И. Беляковой [Белякова, 1977] установлена неравномерность распределения фтора по органам растений: большая его часть накапливается в корнях, чуть меньше его в вегетативной массе (солома, листья, стебли) и менее всего фтора содержится в зерне. В культурных растениях фтор в основном накапливается в листьях и стеблях, меньше в плодах. Реакция растений на загрязнение фтором даже до появления каких-либо симптомов токсичности, проявляется в ослаблении темпов роста, снижении урожайности.

В связи с повышением уровня антропогенного воздействия, весьма актуальной задачей является оценка такого воздействия на культивируемые растения. Различные индикаторные признаки могут использоваться как для выявления отдельных загрязнителей воздуха, так и для оценки качественного состояния природной среды. Одним из таких признаков является изменение ферментативной активности пероксидазы в клетках растений.

Пероксидаза – железопорфириновый фермент, относящийся к классу оксидоредуктаз, который повсеместно встречается во всех растениях, животных и микроорганизмах. Основная функция пероксидазы – катализировать окисление химических соединений за

счёт кислорода перекиси с образованием промежуточных комплексов, обладающих различными спектральными характеристиками. Пероксидаза катализирует большинство реакций, протекающих во всех типах тканей, активизируется при очень многих изменениях и нарушениях метаболизма растений [Андреева, 1988].

Таким образом, целью нашей работы было изучение активности пероксидазы календулы лекарственной *Calendula officinalis* L. в условиях загрязнения почвы фторидами и сульфитами.

Материалом исследования служили проростки календулы лекарственной. Это травянистое растение, относящееся к роду *Calendula* семейства Asteraceae (Compositae). Растение имеет очередные удлинённо-обратнояйцевидные короткоопушённые листья и одиночные жёлто-оранжевые цветочные корзинки. Календула лекарственная имеет широкое применение в медицине в виде настоек и мазей, используется как ранозаживляющее, противовоспалительное и бактерицидное средство [Карпук, 2011].

Исследование по влиянию загрязнения почвы фторидами и сульфитами на активность пероксидазы календулы лекарственной проводилось по схеме двухфакторного трёхуровневого эксперимента. Используемые в опыте концентрации сульфита натрия и фторида натрия приведены в таблице.

В эксперименте использовались полиэтиленовые сосуды для возделывания рассады объёмом 500 мл. В каждый сосуд добавлялось по 350 г грунта, в который предварительно вносились сульфит натрия и фторид натрия по схеме, приведённой в таблице.

Семена растений проращивались и высаживались в сосуды с грунтом. Культивирование проводилось на протяжении тридцати дней при освещённости 12000 люкс, продолжительности светового дня 14 часов, температуре 20–22°C и влажности грунта около 70%.

Определение активности пероксидазы проводили колориметрически по методу А.Н. Бояркина.

Метод основан на определении скорости реакции окисления бензидина до образования синего продукта окисления определённой концентрации, которая предварительно устанавливается на фотоэлектродориметре.

Эксперименты проводили в трёхкратной повторности. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием Microsoft Excel и пакета программ для проведения статистической обработки результатов биологических экспериментов.

Как показали результаты исследования, изменение активности пероксидазы календулы лекарственной было выявлено во всех 8 вариантах, где присутствовало загрязнение почвы. Так, в контрольном варианте (почва без загрязнителей), пероксидазная активность составила $4,99 \pm 0,03$ у.е.

При загрязнении NaF – 100 мг/кг почвы (вариант № 2), показатель активности пероксидазы ростков календулы лекарственной снизился по сравнению с контрольным в 4 раза и составил $1,24 \pm 0,06$ у.е.

В следующем варианте, при увеличении загрязнения почвы NaF до 200 мг/кг, пероксидазная активность была несколько выше, чем в предыдущем варианте опыта, но ниже контрольного варианта почти в 3 раза, и равнялась $1,70 \pm 0,12$ у.е. Следовательно, фторидное засоление негативно сказывается на активности пероксидазы *C. officinalis*.

При внесении в почву Na_2SO_3 в количестве 1г/кг (в варианте №4) активность фермента в растении, сравнительно с контролем, понизилась почти в 4 раза и составила $1,26 \pm 0,12$ у.е

Таблица
Влиянию различных концентраций NaF и Na_2SO_3 в почве на активность пероксидазы *Calendula officinalis*

№ варианта	Загрязнитель	
	NaF, мг/кг	Na_2SO_3 , г/кг
1	0	0
2	100	0
3	200	0
4	0	1
5	100	1
6	200	1
7	0	2
8	100	2
9	200	2

В варианте № 7 с увеличением засоления Na_2SO_3 до уровня 2г/кг наблюдается снижение активности пероксидазы относительно контрольного варианта более чем в 8 раз. Показатель пероксидазной активности здесь составил $0,60 \pm 0,05$ у.е. Соответственно с повышением концентрации сульфита в почве от 1г/кг до 2г/кг, активность фермента снизилась в 2 раза.

При комплексном внесении NaF в количестве 100 мг/кг и Na_2SO_3 в количестве 1г/кг в почву (вариант № 5), показатель активности пероксидазы составил $1,32 \pm 0,03$ у.е., что в 3 раза ниже контроля. При этом же количестве Na_2SO_3 в почве (1г/кг) повышение концентрации NaF до 200 мг/кг (вариант №6) привело к ещё большему снижению пероксидазной активности – до уровня $0,97 \pm 0,17$ у.е., что в 5 раз ниже контроля и в 1,5 раза ниже 5-го варианта. Однако при аналогичном варианте №5 загрязнении почвы NaF (100 мг/кг) и увеличении концентрации Na_2SO_3 до 2 г/кг почвы, отмеченная пероксидазная активность находилась на уровне $1,50 \pm 0,07$ у.е., что незначительно выше 5-го варианта. То есть, при комплексном загрязнении почвы большее ингибирующее действие на активность пероксидазы оказывают соединения фтора.

Наиболее загрязнённая почва, используемая в опыте, содержала Na_2SO_3 в количестве 2 г/кг и NaF – 200 мг/кг (9-й вариант). Рост календулы лекарственной на такой почве был слабый, а активность пероксидазы составила $1,92 \pm 0,07$ у.е., что ниже контроля в 2,5 раза. Как видно, у растений *C. officinalis*, выращенных на почве с наибольшим загрязнением, наблюдается некоторое повышение активности фермента по сравнению с вариантами с более низким содержанием одной или обеих солей. Это может быть связано с включением компенсаторных механизмов и адаптацией растения к неблагоприятным факторам среды.

Таким образом, установленное изменение активности пероксидазы *C. officinalis* при выращивании в условиях загрязнения почвы фторидами и сульфитами свидетельствует о глубокой перестройке метаболических процессов и обеспечивает выживание растения при стрессовых условиях.

ЛИТЕРАТУРА

- Андреева В.А. 1988. Фермент пероксидаза. Москва: Наука: 1: 18–22.
- Белякова Т.И. 1977. Фтор в почвах и растениях в связи с эндемическим флюорозом. *Почвоведение*. 8: 55–63.
- Гапонюк Э.И., Бобовникова Ц.И., Кремленкова Н.П. 1992. Фосфорные удобрения как возможный источник химического загрязнения почв. *Химия в сельском хозяйстве*. 12: 40–42.
- Грушок Я.М. 1987. Вредные неорганические соединения в промышленных выбросах в атмосферу. Справочник. Ленинград: Химия: 161 с.
- Илькун Г.М. 1978. Загрязнители атмосферы и растения. Киев: Наукова думка: 247 с.
- Карпук В.В. 2011. Фармакогнозия. Минск: БГУ: 10–12.
- Лукиянченко А.А. 2006. Доклад о состоянии окружающей природной среды города Донецка в 2004–2005 гг. Донецк: 13–19.
- Савченко М.Ф., Николаева Л.А. 2011. Загрязнение почвенного покрова фтористыми соединениями. *Сибирский медицинский журнал*: 10–12.
- Таранков В.И., Матвеев С.М. 2000. Содержание тяжелых металлов в сосновых биогеоценозах при аэральном техногенном загрязнении. *Лесоведение*. Москва: Наука: 1: 39–45.
- Шебалова Н.М., Бабушкина Л.Г. 1999. Лесные почвы сосновых насаждений, произрастающих в зонах техногенного загрязнения. *В кн.*: Биоиндикация загрязнения. Екатеринбург: Уральская государственная лесотехническая академия: 78–93.