УДК 502.3:581.5

ВПЛИВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА МЕТАБОЛІЗМ АЗОТУ РОСЛИН

Іванченко О.Є.
Дніпропетровський державний аграрний університет

Проанализировано состояние вопроса по литературным данным о влиянии тяжелых металлов на показатели азотного обмена у растений – поглощение нитратного и аммонийного азота, активность ферментов их ассимиляции, содержание разных форм азота, белка, аминокислот.

Загрязнение, тяжелые металлы, высшие растения, азотный обмен

Україна – промислово розвинута країна, яка характеризується високим рівнем зосередження промисловості і сільського господарства, що перетворило її в одну з найбільш неблагополучних у екологічному аспекті країну. Забруднення ґрунтів і водних джерел стало однією з головних причин погіршення екологічного стану на великих територіях [43]. Серед хімічних речовин, які забруднюють довкілля, важкі метали та їх сполуки утворюють численну групу токсикантів [1].

Еколого-фізіологічні реакції рослин на дію забруднення довкілля відіграють переважну роль у визначенні їх толерантності до несприятливих умов. Метаболізм азотвмісних сполук та його спрямованість відіграє важливу роль у життєдіяльності рослин і в значній мірі визначає їх стійкість за умов промислового забруднення. Питання впливу саме важких металів на окремі ланки азотного обміну вивчено недостатньо.

Метою даної роботи було висвітлити стан питання з дослідження впливу важких металів на показники азотного обміну рослин за літературними даними.

Одним із найважливіших етапів мінерального живлення рослин, на який впливають чинники довкілля, є поглинання неорганічного азоту. Так, Н. Смірнов і Г.Р. Стюарт [46] спостерігали уповільнення цього процесу у чутливого виду щучнику дернистого за умов підвищення дози Zn^{2+} в середовищі вирощування. Дослідження з впливу Pb на поглинання NO_3^- проростками огірка посівного вказують, що метал у концентрації 10^{-5} М на 50 % гальмує цей процес [32]. Також встановлено, що Al^{3+}, який не є важким металом, а відноситься до супутніх їм елементом, навіть у концентрації 2 мг/л, гальмує поглинання нітратів коренями гороху [17].

Нашими дослідженнями встановлено інгібування поглинання нітратного і аміачного азоту з живильного розчину декоративними квітковими рослинам за дії надлишку Fe^{2+} і Cr^{3+} [4, 14].

Як наслідок пригнічення надходження нітратного та амонійного азоту до рослин спостерігається зміна їх кількості в органах: вміст нітратів знижується за дії надлишку Fe^{2+} і Cr^{3+}, а особливо за умов їх сумісного внесення. Кількість аміачного азоту в органах квіткових рослин, навпаки, підвищується [15]. Аналогічні результати, але з використанням різних об'єктів дослідження спостерігали й інші автори. Так, на зменшення концентрації NO_3^- в органах рослин у дослідах з Zn вказують також В. Ернст і В. Месус [35]. За токсичної дії Cu, Cd, надлишку Al^{3+} виявлено накопичення NH_4^+ в тканинах вегетативних органів сільськогосподарських рослин [17, 41, 48].

Заслуговує на увагу дослідження вмісту загального, білкового, небілкового азоту в органах рослин. Відомо, що за умов впливу фітотоксичних концентрацій Pb, Zn, Co на рослини відбувається падіння вмісту загального азоту в листках [9]. У дослідах С. Макхері та Р.Б. Кумар [41] хром викликав зниження вмісту розчинного азоту в зародковій частині паростків квасолі звичайної і збільшення його концентрації у сім'ядолях.

У наших дослідах забруднення середовища залізом та хромом не спричиняє змін вмісту загального азоту у *Tagetes patula*, який є стійким до даного типу токсикантів видом, але суттєво зменшує у чутливого *Lathyrus odoratus*. Концентрація білкового азоту зазнає протилежних змін: підвищується у *T. patula* і знижується у *L. odoratus*. Вміст небілкового азоту в листках *L. odoratus* зростає щодо контролю, а у *T. patula* єдиного напрямку змін за цим показником не виявлено [15].

Висока пластичність азотного обміну – один з найважливіших принципів пристосування рослин до широкого діапазону дії екологічних чинників. Провідною компонентою цієї пластичності є зміна швидкості окремих ензиматичних реакцій. Тому для розуміння адаптивних реакцій рослин до техногенного навантаження важливим є вивчення активності ферментів азотного обміну.

Нітратредуктаза (НР), порівняно з іншими ферментами азотного обміну, має найвищу фенотипічну і генотипічну мінливість [22]. Цей фермент реагує на водний [13], сольовий [27] і температурний стреси [21]. В літературі є відомості про різний характер впливу на активність НР фітотоксичних концентрацій Cd^{2+} [48]. Досліджено вплив на активність цього ферменту ванадію [44], нікелю [47] та свинцю [39].

За дії нефізіологічних кількостей Fe^{2+} та Cr^{3+} в органах декоративних квіткових рослин спостерігається гальмування нітратредуктазної активності (НРА) стосовно контролю. Стійкіші за морфологічними ознаками види в умовах забруднення довкілля зберігають вищу НРА щодо контролю, ніж чутливі [5]. Найбільш пряма залежність зниження НРА зі зміною градієнта забруднення виражена у *Impatiens balsamina* і *L. odoratus*. Слід зазначити, що використовувати активність цього ферменту як індикатор на металотолерантність запропонували К. Мутучеліан зі співавт. [42].

Ферментам азотного метаболізму, що приймають участь у перетворенні аміаку властива зміна каталітичної активності у відповідь на вплив негативних екологічних чинників: засолення, несприятливих температур, токсичних концентрацій NH_4^+ [12, 31]. Відомі дані про вплив таких важких металів як Cd^{2+}, Ni^{2+}, Cr^{6+} [10] на активність ензимів. Дослідами Ч. Чіраз зі співавт. [33] встановлено зміну активності глутамінсинтетази (ГС) і глутаматсинтази (ГТС) за дії Cd^{2+} в органах рослин томату.

Нашими дослідженнями виявлено інгібування активності ГС та ГТС в органах квіткових рослин за умов забруднення середовища вирощування сполуками Fe^{2+} та Cr^{3+}. Зіставлення рівня пригнічення активності ферментів у дослідних видів свідчить, що він більший у чутливого *L. odoratus*, ніж у толерантного *T. patula*. Найбільш істотний ступінь гальмування активності цих ензимів спостерігається наприкінці вегетації, що узгоджується з більшим рівнем накопичення в коренях і листках важких металів. Активність ензимів у коренях рослин зменшується у більшій мірі, ніж у листках [15].

Одним із способів асиміляції амонію у рослинах є відновлювальне амінування α-кетоглутарової кислоти, яке каталізується ферментом глутаматдегідрогеназою (ГДГ) і приводить до утворення глутамату [7].

Встановлено, що активність ГДГ у листках декоративних однорічних рослин під впливом надлишку Fe^{2+} та Cr^{3+} підвищується. У стійкого за морфологічними ознаками виду *T. patula* активація суттєвіша і триває до кінця експерименту, в той час як у чутливого виду *L. odoratus* наприкінці експерименту визначено інгібування активності ензиму щодо контролю [3].

У літературі є відомості, що за дії несприятливих чинників, спостерігається індукція і/або посилення синтезу ГДГ під впливом ендогенного амонію, який є відповідальним за збільшення активності ГДГ. Це спостерігається в процесі старіння і темнового стресу у зрізаних листках паростків гарбуза, за дії гербіциду 2,4–Д в органах гороху і кукурудзи [26]. Показано значну стимуляцію ГДГ активності у листках пшениці *in vitro* при додаванні Cu^{2+} і Cd^{2+} [16]. Проте, у сім'ядолях гарбуза показано інгібуючу дію Zn^{2+} на активність ГДГ [34].

Поглинутий рослиною або утворений внаслідок відновних реакцій NH_4^+ взаємодіє з карбоновими кислотами з утворенням амінокислот [7]. Вільні амінокислоти вважають центром всього азотного обміну рослинного організму [6]. В літературі зустрічаються повідомлення стосовно змін кількості вільних амінокислот за дії різних несприятливих екологічних чинників, а саме водного і сольового стресів, нестачі мінеральних елементів тощо [25]. Вміст цих низькомолекулярних азотвмісних сполук збільшується при фенольному забрудненні атмосфери [19], фумігації сірчистим ангідридом [45], аміаком і

оксидами азоту [30], за дії пестицидів [29], гербіцидів [28], надлишку іонів Al^{3+} [17], таких важких металів як Cd [38], Pb [40], Ni [18], Cr [11].

Нашими дослідженнями встановлено ідентичний якісний склад вільних амінокислот у коренях і листках декоративних однорічних рослин дослідного і контрольного варіантів. У коренях під впливом надлишку Fe^{2+} і Cr^{3+} виявлено зменшення вмісту амінокислот, у більшій мірі аспартату, треоніну, цистеїну, амідів – аспарагіну та глутаміну. У листках, навпаки, їх кількість перевищує контрольні показники, особливо за рахунок глутамату, проліну, аланіну, аргініну, треоніну [15].

Ю.В. Лихолат зі співавт. [20] робить висновок, що надлишковий вміст вільних амінокислот в коренях газонних трав за умов промислових підприємств може бути тестом на їх стійкість за цих умов. За результатами досліджень Н.І. Штеменко та ін. [29] було введено одиницю – „індекс невключення" – відношення кількості вільної амінокислоти до її сумарної кількості, яка характеризує ефективність використання фонду вільних амінокислот в процесі біосинтезу білка. Залежно від ступеня змін цих показників можна слідкувати за станом рослинних організмів, що дає можливість оцінити не тільки негативну дію на них чинників антропогенного походження, але й провести індикацію забруднення інгредієнтами викидів промисловості.

У рослинному організмі з амінокислот у результаті реакції полімеризації утворюються білки. Білки рослин є комплексом складних речовин, які розрізняються і за ступенем розчинності і за функціональним призначенням. Деякими авторами встановлено підвищення вмісту водорозчинних білків за дії Pb^{2+} і Cd^{2+} в зерні кукурудзи при проростанні [28].

Cd^{2+} призводить до зростання їх кількості у рослинах гороху [28]. Проте Чі-Янг Хуанг та ін. [37] вказують на зниження вмісту розчинного білка в бульбочках сої за дії кадмію та свинцю. У рослин томату їстівного Cr^{6+} посилює протеоліз білків [23]. Є повідомлення, що надлишкові концентрації Pb впливають на фракційний склад білкового обміну: при постійному вмісті глобулінів збільшується кількість проламінів, глютелінів і нерозчинного залишку і дещо зменшується вміст альбумінів [24], знижується співвідношення РНК/білок і ДНК/білок [40].

Нашими дослідами виявлена видоспецифічність у вмісті білка у вегетативних органах квітникових рослин, які відрізняються за стійкістю до надлишку Fe^{2+} і Cr^{3+}. У листках і стеблах чутливих видів *L. odoratus* і *Salvia splendens* кількість легкорозчинного білка знижується щодо контролю, а в коренях – підвищується. У стійкого *T. patula* вміст цієї фракції білка на тлі надлишку Fe^{2+} та Cr^{3+} збільшується. Концентрація важкорозчинного протеїну у *L. odoratus* і *S. splendens* зменшується, а у *T. patula* – зростає відносно контролю [15].

О.Є. Волчевська-Козак та В.Г. Адамовська [8] падіння вмісту білка пояснюють посиленням процесів деструкції існуючих білків. Інгібування синтезу білка за дії стресорів також може бути обумовлено, як лімітуванням цього процесу з боку забезпечення енергією і активованими амінокислотами, так і зниженням функціональної активності нуклеїнових кислот [27]. Слід також зазначити, що хром у аніонній і катіонній формі пригнічує процеси полімеризації пептидів у білки [36].

Таким чином, аналіз даних з питання впливу важких металів на азотний обмін рослин свідчить про недостатнє висвітлення цієї проблеми за літературатурними даними. Слід наголосити на відсутність публікацій питання щодо сумісної дії надлишкових концентрацій металів на поглинання мінерального азоту рослинами, вмісту вільних амінокислот.

Перспективним є дослідження негативної дії фітотоксикантів на тлі різних форм неорганічного азоту – нітратного або амонійного на ростові показники і розвиток рослин.

ЛІТЕРАТУРА:

1. *Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почве и растениях. – Л.: Агропромиздат, 1987. –*

142 с.

2. *Бабенко В.И., Нарийчук Ф.Д. Влияние пониженной температуры на малат- и глутаматдегидрогеназу хлоропластов озимой пшеницы // Доклады АН СССР. – 1976. – Т. 228, № 5. – С. 1252–1255.*
3. *Бессонова В.П., Іванченко О.Є. Зміна активності глутаматдегідрогенази в органах декоративних квіткових рослин за дії Fe^{2+} та Cr^{3+} // Вісник Дніпропетровського університету. – 2008. – Т. 16, № 1. – С. 3–7.*
4. *Бессонова В.П., Іванченко О.Є. Поглинання аміачного азоту з живильного розчину декоративними квітковими рослинами за умов впливу на них надлишку Fe^{2+} та Cr^{3+} // Наука та технології: крок в майбутнє – '2007: матеріали II міжнародної науково-практичної конференції, (Дніпропетровськ, 1–15 березня 2007 р.). – Дніпропетровськ : Наука і освіта, 2007. – С. 6–8.*
5. *Бессонова В.П., Фендюр Л.М., Іванченко О.Є. Оцінка стану асиміляційної поверхні декоративних квіткових рослин при дії надлишку заліза та хрому у навколишньому середовищі // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя, 2003. – Вип. 8, № 2. – С. 51–73.*
6. *Благовещенский А.В. Биохимия обмена азотистых веществ у растений. – М.: Изд-во АН СССР, 1958. – 354 с.*
7. *Брей С. Азотный обмен в растениях.– М.: Агропромиздат, 1986. – 200 с.*
8. *Волчевська-Козак О.Є., Адамовська В.Г. Вплив абіотичних та біотичних стресів довкілля на білковий обмін рослин хрестоцвітих культур // Питання біоіндикації і екології: Тези Міжнародної конференції (21–24 вересня 1998 р.). – Запоріжжя: ЗДУ. – С. 84.*
9. *Гармаш Н.Ю. Влияние металлов на содержание химических элементов в растениях пшеницы // Химия в сельском хозяйстве. – 1987. – № 3. – С. 57–60.*
10. *Динев Н., Митова И. Тяжкометално залерсяване (Cr, Ni, Cd) и някон физиолоцыни пролини при слънчоглед // Почвозн. и стратегията за устойчиво земледелие в България: Докл. на 5 нац. конф. с междунар. участие (10–13 май 1994 г). – София: Почвозн., агрохим. и экол, 1996. – С. 74–75.*
11. *Еремка Е.В., Перепечаева А.П. Роль белков и аминокислот в устойчивости растений к хрому // Устойчивость растений к стрессовым условиям. – Донецк, 1991. – Деп. В Укр. ВИНИТИ 16.01.91, № 128. – Ук–91. – С. 2–11.*
12. *Жунгиету Г.И., Жунгиету И.И. Химическая экология высших растений. – Кишинев: Штиинца, 1991. – 200 с.*
13. *Ильчуков В.В., Шер К.Н. Активность нитратредуктазы в проростках пшеницы при действии засухи // Физиология и биохимия культ. растений. – 1991. – Т. 23, № 1. – С. 79–82.*
14. *Іванченко О.Є. Вплив важких металів заліза та хрому (кожного окремо і при сумісній дії) на поглинання азоту з живильного розчину і його вміст у вегетативних органах Petunia × hybrida // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя, 2002. – Вип. 7, № 1. – С. 65–74.*
15. *Іванченко О.Є. Еколого-фізіологічні особливості азотного обміну декоративних однорічних рослин як індикатора забруднення промислових територій залізом та хромом: Автореф. дис… канд. біол. наук: 03.00.16 – екологія / Дніпропетровський національний університет. – Дніпропетровськ, 2006. – 20 с.*
16. *Іванюк Г.В. Вплив фітохрому, двовалентних катіонів і регуляторів їх мембранної проникності на активність НАД·Н-глутаматдегідрогенази озимої пшениці // Физиология и биохимия культ. растений. – 1997. – Т. 29, № 5. – С. 333–337.*
17. *Климашевский Э.Л. Генетический аспект минерального питания растений. – М.: Агропромиздат, 1991. – 414 с.*
18. *Кудашева Ф.Н. Особенности азотного обмена пихты сибирской при адаптации к воздушному загрязнению // Флора, растительные ресурсы Забайкалья: Материалы*

Международной конференции (11–12 ноября 1997 г.). – Т. 2. – Чита, 1997. – С. 138–140.

19. *Кулагин А.Ю., Сахнов Н.С., Гиниятуллин З.Х. Содержание аминокислот в листьях Salicaceae в условиях фенольного загрязнения // Ботан. исследования на Урале (Информ. материалы). – Свердловск, 1990. – С. 52.*
20. *Лихолат Ю.В., Лыженко И.И., Заморуева Л.Ф. Содержание свободных аминокислот в корнях газонных трав в условиях промышленного стресса // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя, 1997. – Вип. 2, № 1. – С. 24–28.*
21. *Пешкова А.А. Особенности усвоения нитратов проростками озимой и яровой пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. – 1990. – Т. 22, № 2. – С. 142–147.*
22. *Пешкова А.А., Хавкин Э.Е. Активность нитратредуктазы и ассимиляция нитратов в связи со скоростью роста проростков кукурузы // Физиология растений. – 1980. – Т. 27, № 5. – С. 1032–1039.*
23. *Прокушина С.Е. Действие хрома на содержание общего и растворимого азота у проростков Lycopersicum esculentum // Тез. конф. (29–31 марта 1994 г.). – Донецк, 1994. – С. 54–56.*
24. *Ракипов Н.Г., Плешков Б.П. Фракционный состав белков зерна ячменя и содержание в них лизина // Изв. ГСХА. – 1977. – № 2. – С. 99–102.*
25. *Судачкова Н.Е., Милютина И.Л., Кожевникова Н.Н., Семенова Г.П. Влияние экологических стрессов на состав метаболитов в сеянцах сосны обыкновенной // Лесоведение. – 1990. – № 4. – С. 49–57.*
26. *Ткемаладзе Г.Ш. Влияние 2,4-Д на активность глутамат- и малатдегидрогеназы в проростках гороха и кукурузы // Физиология растений. – 1981. – Т. 28, № 5. – С. 1013–1021.*
27. *Удовенко Г.В. Солеустойчивость культурных растений. – Л.: Колос, 1977. – 215 с.*
28. *Филоник И.А. Комплексное действие гербицида фронтьер и тяжелых металлов на систему протеолиза и белковый обмен в зерне кукурузы при прорастании // Актуальные проблемы экологии: Материалы I Международной конференции (6–8 октября 2004 г.). – Гродно: ГрГУ, 2005. – Часть 2. – С.54–57.*
29. *Штеменко Н.И., Мороз Ю.Л., Пишна О.О. Вільні і зв'язані амінокислоти зерна кукурудзи різних генетичних форм при вирощуванні на пестецидному фоні // Физиология и биохимия культ. растений. – 1999. – Т. 31, № 4. – С. 270–275.*
30. *Anbazhagan M., Krishamurthy R., Bhagwat K.A. Proline and an enigmatic indicator of air pollution tolerance of rice cuitivars // J. Plant Physiol.–1988.–Vol.133, № 1.– P.122–123.*
31. *Berteli Francisco, Corrales Elena, Guerrero Consuelo, Aniza Maria J., Pliego Fernando, Vapuesta Victoriano. Salt stress increase ferredoxin dependent glutamate synthase activity and protein level in the leaves of tomato // Physiol. plan.–1995.–Vol.93, № 2.– P.259–264.*
32. *Burzynski Marek, Grabowski Adam. Influence on NO_3^- uptake and reduction in cucumber seedling // Acta soc. Pol.–1984.–Vol.53, № 1.– P.77–86.*
33. *Chaffei Chiraz, Gouia Houda, Masclaux Céline, Ghorbel Mohamed Habib. Ŕeversibilit é dews effects du cadmium sur la croissance et l'assimilation de l'azote chez tomate (Lycopersicon esculentum) // C.r. Biol. Acad. Sci. Paris.–2003.–Vol.326, № 4.– P.401–412.*
34. *Chou K.–H., Splittstoesser W.E. Glutamate dehydrogenase from pumpkin cotyledons: Characterization and isoenzymes // Plant Physiol.–1972.–Vol.49, № 4.– P.550–554.*
35. *Ernst W., Mathus W. Phusiologische Grundlagen der Schwermetall-resistenz – Enzymaktivtäten und organische Säuren. – Forch. Landesk Nordrhein–Weatfalen.–1975.–№ 2496.– S.38.*
36. *Goring H. Biochemical changes of Aesculus hippocastanum under influence of heavy metals // Miner. Nutr. Plants. Tras. Int. Symp. Plants Nutr.–1989.–Vol.9, № 6.– P.103–109.*
37. *Huang Chi-Ying, Bazzaz F.A., Vandesholf L.N. Inhibition of soybean metabolism by cadmium and lead // Plant Physiol.–1974.–Vol.54, № 1.– P.122–124.*
38. *Kamenova-Yuchimenko St., Georgieva V., Markovska J. Changes in the quantity of aminic*

acids and soluble proteins as regardes pea plants in an answer to Cd toxicity in the rpesenhce of some physiologically – active substance // European Workshop on Environmental stress and Sustainable Agriculture (7–12 Sept., Varna).–Bulg. J. Plant Physiol.–2003.–Spec. Issul.– C.397.

39. *Kumar G., Singh R.-P., Sushila. Nitrate assimilation and biomass production in Sesamum indicum L. seedlings in a lead enriched environment // Water, Air and Soil Pollut.–1993.– Vol.66, № 1–2.– P.163–171.*
40. *Maitra P., Mukherji S. Effect of lead on nucleic acid protein contents of rice (Oryza sativa L.) seedlings and its interaction with IAA and GA_3 in different plant systems // Indian J. Exp. Biol.–1979.–Vol.15, № 9.– P.56–67.*
41. *Mukherji S. Characterization of chromium toxicity in different plant materials // Indian J. Exp. Biol. – 1978. – № 9. – P.45–56.*
42. *Muthuchelian K., Ram S. Maria Victorial, Paliwal Kailash. Differential action of Cu^{2+} and Cd^{2+} on chlorophyll biosynthesis and nitrate reductase activity in Vigna sinensis L. (Savi) // Indian J. Plant Physio.–1988.–Vol.31, № 2.– P.169–173.*
43. *Phytoremediation of Toxic Metals. Using Plants to Clean up the Evironment.–Eds. Raskin I., Ensley B.D.–N.Y.: Wiley and Sons.–2000.– 685p.*
44. *Ramadoss C.S. The effect of vanadium on nitrate of chlorella // Planta.–1979.–Vol.146, № 9.– P.539–544.*
45. *Ranieri A., Bernardi R., Pisanelly A. et al. Changes in the free amino acid pool and in the protein pattern of maize leaves under continuous SO_2 fumigation // Plant Physiol. and Biochem.–1990.–Vol.28, № 5.– P.601–607.*
46. *Smirnoff N., Stewart G.R. Nitrogen assimilation and zinc toxicity to zinc-tolerant and non-tolerant clones of Deachampsia cesptisosa // New Phytol.–1987.–№ 4.– P.101–102.*
47. *Xylander M., Augster H. The influence of nickel on growth and nitrate reductase activity // Beitr. Biol. plant.–1990.–Vol.65, № 3.– P.419.*
48. *Yang Yanhua, Chen Guoxiang, Liu Shaohua, Wang Na, Wu Guorong, Shi Guoxin. The influence of cadmium on photochemical characteristics and nitrate reduction in leaves of Hydrilla verticilla (L. f.) Royll. // J. Nanjing Norm. Univ. Natur. Sci.–2002.–Vol.25, № 1.– P.28–32.*

INFLUENCE OF HEAVY METALS ON NITROGEN METABOLISM OF PLANTS

Ivanchenko O.E.

The state of question from literary data about influence of heavy metals on the indexes of nitric exchange at plants is absorption of nitrate and ammoniacal nitrogen, activity of enzymes of their assimilation, maintenance of different forms of nitrogen, albumen, amino acid has been analysed.