



МИНИСТЕРСТВО ПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ГУМАНИТАРНО-ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «ЮУрГГПУ»)

ФАКУЛЬТЕТ ЕСТЕСТВЕННО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ
КАФЕДРА ХИМИИ, ЭКОЛОГИИ И МЕТОДИКИ ОБУЧЕНИЯ ХИМИИ

**Влияние загрязнения окружающей среды на активность каталазы
в почках древесных растений**

**Выпускная квалификационная работа по направлению
05.03.06 Экология и природопользование**

Направленность программы бакалавриата

«Природопользование»

Форма обучения очная

Проверка на объем заимствований:

80,16 % авторского текста

Работа рекомендована к защите
рекомендована/не рекомендована

«06» июня 2022 г.

Зав. кафедрой Химии, экологии и методики
обучения химии
(название кафедры)

Су Сутягин А.А.

Выполнила:

Студентка группы ОФ-401/058-4-1
Султанова Лейсан Азаматовна

Научный руководитель:

канд. пед. наук, доцент

Лисун Лисун Наталья Михайловна

Челябинск

2022

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОИНДИКАЦИИ	7
1.1 Биоиндикация состояния окружающей среды.....	7
1.2 Ферменты и их классификация. Оксиредуктазы.....	13
1.3 Факторы окислительного стресса и возможности их индикации с помощью активности ферментов.....	17
Выводы по первой главе.....	23
ГЛАВА 2 ОПИСАНИЕ ОБЪЕКТОВ БИОИНДИКАЦИИ И УСЛОВИЙ ИХ ПРОИЗРАСТАНИЯ.....	24
2.1 Анатомическое и биологическое описание используемых древесных растений в качестве биоиндикаторов.....	24
2.1.1 Липа сердцевидная.....	24
2.1.2 Береза повислая.....	26
2.2 Описание мест отбора проб.....	28
2.2.1 Центральный район.....	30
2.2.2 Советский район.....	31
2.2.3 Ленинский район.....	32
2.2.4 Metallургический район.....	33
2.2.5 Калининский район.....	34
2.2.6 Курчатровский район.....	35
2.2.7 Поселок Тимирязевский.....	36
Выводы по второй главе.....	37
ГЛАВА 3 ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАИБОЛЕЕ ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАЙОНОВ ГОРОДА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ В ПОЧКАХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ	38
3.1 Зависимость активности каталазы от объекта биоиндикации и места его произрастания.....	38
Выводы по третьей главе.....	42

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	43
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	45
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 Титриметрический метод определения активности каталазы по А.Н. БАХУ и А. И. Опарину.....	48

ВВЕДЕНИЕ

Проблема изучения древесных растений в условиях городской среды обусловлена возрастающей техногенной нагрузкой на урбанизированной территории.

Воздействие внешних факторов на растения такие как, механическое повреждение, техногенное загрязнение, грибные и вирусные болезни и др. вызывают ответную реакцию со стороны физиологических показателей. Учеными многих стран доказано, что причина, вызывающие повреждения живой системы становятся формы активного кислорода, образование которого происходит под воздействием вредных факторов, причем наибольшую опасность представляет совокупность многих стресс-факторов.

Активный кислород – это необходимая составляющая для поддержания жизнедеятельности клеток. Физиологические процессы такие как, процессы дыхания, фотосинтеза, биосинтеза АТФ напрямую имеют неотъемлемую взаимосвязь с активными формами кислорода, что представляют собой сигнальную молекулу и способствуют активизации защитной системы клетки и т. дл. [5].

Особую опасность для человека и окружающей природной среды несут тяжелые металлы. Они могут присутствовать в почве, воде и атмосфере. Металлы могут накапливаться в пищевых продуктах из-за их присутствия в окружающей среде, в результате деятельности человека, такой как сельское хозяйство, промышленность или автомобильные выхлопы, в результате загрязнения во время обработки и хранения продуктов питания. Тяжелые металлы накапливаются в почве и затем аккумулируются растениями, многие из которых резко реагируют на поллютанты. Таким образом, существует много способов выявления тяжелых металлов в окружающей среде, одним из которых является растений – биоиндикаторов.

Растения – биоиндикаторы реагируют и дают адекватную реакцию на воздействие комплекса факторов (активные формы кислорода, тяжёлые металлы и другие). Чувствительными показателями биоиндикации растений могут служить как отдельные процессы в клетке и организме (изменение ферментативной активности, изменения в пигментном комплексе) так и морфологические изменения (изменение и формы и размера листовой пластинки, хлорозы и некрозы).

Цель исследования: Оценить техногенную нагрузку в разных районах г. Челябинск по определению активности каталазы в почках древесных растений.

Задачи исследования:

1. Изучить методы биоиндикации для оценки степени техногенной нагрузки в условиях городской среды по состоянию древесных растений;
2. Оценить степень техногенной нагрузки в различных районах города Челябинск с использованием методов биоиндикации по активности ферментов древесных растений (березы, липы);
3. Установить зависимость активности каталазы в почках древесных растений (березы и липы) от степени техногенной нагрузки районов города Челябинск.

Объект исследования: Активность каталазы в почках березы и липы в условиях техногенной нагрузки.

Предмет исследования: Почка березы и липы.

Практическая значимость работы заключается в том, что материалы исследования могут быть использованы в дальнейшем экологами и природопользователями для комплексного изучения состояния окружающей среды в г. Челябинск, а также для улучшения качества природной среды.

В условиях биотического и абиотического стресса в растениях образуются активные формы кислорода (АФК), вызывающие окислительный стресс. Также АФК выполняют дополнительные

сигнальные роли в адаптации растений к стрессу. Изучение механизмов этого процесса позволяет разрабатывать новые способы защиты организмов, особенно сельскохозяйственных растений, от негативного воздействия стресса.

ГЛАВА 1 ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОИНДИКАЦИИ

1.1 Биоиндикация состояния окружающей среды

Биоиндикация – это метод, который имеет глубокие исторические корни. В частности, первые схемы растений-индикаторов горных пород были составлены А. П. Карпинским (1846–1847 гг.) в конце XIX в. В начале XX в. растения-биоиндикаторы применялись при изучении сельскохозяйственных угодий, климата, горных пород, ареалов грунтовых вод. Это были работы Ф. Клементса (1874–1945 гг.), Л. Г. Раменского (1884–1953 гг.), В. Н. Сукачева (1880–1967 гг.) и т.д. Природоохранная индикация развивалась со второй половины XX в.

Экологическими основами биоиндикации является тот факт, что все живые существа требуют определенные условия существования. Любой живой организм невозможно рассматривать вне окружающей его среды. Под окружающей средой принято понимать комплекс всех объектов, явлений и процессов, внешних по отношению к данному организму, популяции или сообществу организмов, но взаимодействующих с ними. Все свойства окружающей среды и ее элементы, способные прямо или косвенно влиять на организм или группу организмов называются экологическим факторами [6].

Экологические факторы исключительно разнообразны. Именно с этим связано большое число классификаций, которые применяются для их дифференциации. Одна из самых употребляемых делит все факторы окружающей среды на три группы:

- абиотические, или абиогенные;
- биотические, или биогенные;
- антропогенные [9].

Несмотря на тот факт, что факторы окружающей среды обладают большим разнообразием, существует ряд закономерностей их влияния на живые организмы. Среди них выделяются:

- закон оптимума (толерантности);
- неоднозначность действия факторов среды на разные функции организма;
- разнообразие индивидуальных реакций каждого конкретного организма на различные факторы среды;
- относительная независимость приспособления организмов к разным факторам среды;
- взаимодействие экологических факторов;
- правило лимитирующих факторов среды и закон минимума [9].

Закон оптимума, или толерантности, который впервые сформулирован В. Шелфордом гласит, что для каждого биоценоза, организма или определенной стадии его развития существует диапазон наиболее благоприятного (оптимального) значения каждого фактора.

Неоднозначность действия факторов среды на разные функции организма проявляется в том, что оптимальное значение фактора среды для одной функции может угнетать другую функцию живого организма.

Разнообразие индивидуальных реакций каждого конкретного организма на различные факторы среды часто легко наблюдать на различных этапах развития того или иного организма.

Относительная независимость приспособления организмов к разным факторам среды проявляется в том, что способность вида существовать при, например, широком температурном диапазоне, не означает такую же его способность к жизнедеятельности при, например, значительных колебаниях солености.

Принцип взаимодействия экологических факторов ярче всего проявляется в случае, когда зона оптимума и пределы выносливости по отношению к какому-либо фактору среды смещаться в зависимости от того, с какой силой и в каком сочетании воздействуют одновременно другие факторы.

Сущность правила лимитирующих факторов среды и закон минимума заключается в том, что фактор, находящийся в недостатке или избытке, отрицательно влияет на организмы и, кроме того, ограничивает возможность проявления силы действия других факторов, в том числе и находящихся в оптимуме [10].

Если хотя бы один из лимитирующих факторов нарушается, растение испытывает угнетение. Как следствие происходит нарушение морфологических структур, физиологических функций. По этим изменениям можно оценивать и изменения окружающей среды [11].

Метод биологической индикации позволяет провести комплексную оценку состояния окружающей среды, степень техногенной нагрузки и имеет такие преимущества как:

1. Метод позволяет не использовать дорогостоящее, сложное в обращении, трудоемкое аналитическое оборудование.
2. Биоиндикаторы позволяют провести интегральную оценку состояния окружающей среды.
3. Биоиндикаторы позволяют оценить скорость происходящих изменений, привычные пути миграции, места скопления токсичных веществ.
4. Метод подходит для экспресс-оценки состояния окружающей среды.

Вместе с тем биоиндикация не позволяет численным образом оценить состояние окружающей среды, выявить элементарный состав загрязнителей. На тех участках, где обнаружены нарушения в морфофункциональном состоянии биоиндикаторов необходимы более детальные исследования с использованием точного аналитического оборудования [12].

Таким образом, биологическая индикация – это метод оценки состояния среды по наличию, либо отсутствию в ней тех или иных организмов, по тем изменениям, которые в этих организмах происходят.

С помощью растений можно проводить биоиндикацию всех природных сред. Индикаторные растения используются при оценке механического и кислотного состава почв, их плодородия, увлажнения и засоления, степени минерализации грунтовых вод и степени загрязнения атмосферного воздуха газообразными соединениями, а также при выявлении трофических свойств водоемов и степени их загрязнения поллютантами. Например, на содержание в почве свинца указывают виды овсяницы (*Festuca ovina* и др.), полевицы (*Agrostis tenuis* и др.); цинка - виды фиалки (*Viola tricolor* и др.), ярутки (*Thlaspi alpestre* и др.); меди и кобальта - смолевки (*Silene vulgaris* и др.), многие злаки и мхи.

Чувствительные фитоиндикаторы указывают на присутствие загрязняющего вещества в воздухе или почве ранними морфологическими реакциями – изменением окраски листьев (появление хлорозов; желтая, бурая или бронзовая окраска), различной формы некрозами, преждевременным увяданием и опаданием листвы. У многолетних растений загрязняющие вещества вызывают изменение размеров, формы, количества органов, направления роста побегов или изменение плодовитости. Подобные реакции обычно неспецифичны.

Б. В. Виноградов классифицировал индикаторные признаки растений как флористические, физиологические, морфологические, фитоценоотические. Флористическими признаками являются различия состава растительности изучаемых участков, сформировавшиеся вследствие определенных экологических условий. Индикаторное значение имеет как присутствие, так и отсутствие вида. К физиологическим признакам относятся особенности обмена веществ растений, к анатомо-морфологическим признакам – особенности внутреннего и внешнего строения, различного рода аномалии развития и новообразования, к фитоценоотическим признакам – особенности структуры растительного покрова: обилие и рассеянность видов растений, ярусность, мозаичность, степень сомкнутости.

Очень часто в целях биоиндикации используются различные аномалии роста и развития растения – отклонения от общих закономерностей. Ученые систематизировали их в три основные группы, связанные:

- 1) с торможением или стимулированием нормального роста;
- 2) с деформациями стеблей, листьев, корней, плодов, цветков и соцветий;
- 3) с возникновением новообразований.

Гигантизм и карликовость многие исследователи считают уродствами. Например, избыток в почве меди вдвое уменьшает размеры калифорнийского мака, а избыток свинца приводит к карликовости смолевки.

Биомониторинг может осуществляться путем наблюдений за отдельными растениями-индикаторами, популяцией определенного вида и состоянием фитоценоза в целом. На уровне вида обычно производят специфическую индикацию какого-то одного загрязнителя, а на уровне популяции или фитоценоза – общего состояния природной среды

Для биоиндикации состояния водоемов используют растения-макрофиты. К примеру, массовое развитие представителей семейства рясковых (*Lemnaceae*) является индикатором экологического неблагополучия в экосистеме озера. Обилие ряски трехдольной (*L. trisulca*) указывает на избыток биогенных веществ в воде, а ряски малой (*L. minor*) – на возможное промышленное или сельскохозяйственное загрязнение водоема. Индикаторами эвтрофирования водоемов, происходящего под влиянием антропогенных факторов, выступают аир (*Acorus calamus*), сусак зонтичный (*Vallisneria spiralis*), рогоз широколистный (*Typhalatifolia*) и ряд других видов. Напротив, обильное произрастание представителей рода рдест (рдест альпийский, *Ranunculus alpinus*, рдест волосовидный, *R. trichoides*) указывают на высокую степень чистоты водоема.

Среди методов контроля уровня загрязнения Мирового океана тяжелыми металлами с начала 1970 гг. широкое распространение получила

биоиндикация с использованием водорослей-макрофитов. Выбор этих организмов обусловлен их способностью концентрировать в своих тканях химические элементы, содержащиеся в среде (в 1000–100000 раз). Наиболее перспективными в этом отношении являются некоторые представители бурых водорослей (например, саргассовые водоросли), которые имеют большую площадь взаимодействия со средой, высокий уровень содержания альгинатов в тканях и длительный период полувыведения металлов из организма [4].

Наземные виды растений, используемые для биоиндикации, как правило, не сокращают свою численность при действии неблагоприятных факторов, но у них могут проявляться видимые патологии (хлороз, повышение уровня асимметрии листьев и т.д.). Примеры подобной биоиндикации известны еще с XVII в. Так, английские горняки определяли локализацию месторождений цинковых руд по произрастанию галмейской фиалки (*Viola calaminaris* L.) и галмейской ярутки (*Thlaspi calaminaris* L.). В настоящее время экологическую оценку лесных экосистем чаще всего проводят на основании оценки общего состояния древостоя, линейного прироста деревьев, состояния хвои и т.п. Определенную информацию о состоянии среды можно получить на основании химического элементного состава золы, полученной при сжигании древесины.

Общие принципы фито-, альго-, лишено-, бриоиндикации:

1. Фитоиндикатор должен быть простым и интуитивно понятным.
2. Методика должна быть научно валидной, не занимать много времени в полевых условиях, легко повторяться и отталкиваться от принятых ботанических описаний растительности.
3. Методика должна характеризовать не только текущее состояние окружающей среды, но и быть прогностической.
4. Индикаторы должны быть достаточно гибкими, т.е. используемыми в различных экологических и географических условиях.

5. Индикаторы должны иметь однозначный уровень применения (пространственную обусловленность) – глобальный, региональный или локальный: интерпретация индикаторов не должны выходить за рамки определённого уровня.

6. Индикатор – биологическая характеристика или признак, которая даёт представление о явлениях и процессах и используется при оценке интересующего параметра окружающей среды (что показывает);

7. Индикат – параметр окружающей среды, который оценивается (что определяется).

Основными требованиями к индикатору и индикату являются:

– уровень точности и отклика, то есть индикатор и индикат должны между собой значимо и однозначно коррелировать;

– индикатор должен характеризоваться критическим уровнем информации или пределами, в которых он работает и даёт однозначную оценку индиката, а за пределами которых оценка некорректна.

Таким образом, к настоящему времени разработано и успешно апробировано большое число методов биоиндикации, которые проводятся с использованием разных организмов и на разных уровнях организации живых систем. Нами же будет более рассмотрен метод дендроиндикации, а в качестве индиката мы будем использовать определение активности каталазы в почках древесных растений по А. Н. Баху и А. И. Опарину (приложение 1)

1.2 Ферменты и их классификация. Оксидоредуктазы

В процессе жизнедеятельности растений в клетках одновременно происходят тысячи химических реакций при обычной температуре и нормальном давлении. В этих реакциях участвуют ферменты растений, вырабатываемые клеткой.

Ферменты являются биологическими катализаторами, которые образуют промежуточные соединения с реагирующими веществами и после

окончания реакции освобождаются. Поэтому малое количество фермента может осуществить превращение большого количества вещества [8].

Например, фермент каталаза в одну минуту при 0 °С может катализировать разложение 5 000000 молекул перекиси водорода. Роль ферментов такая же, как и роль неорганических катализаторов, используемых в химии.

В связи с тем, что в растении все время происходит большое количество разнообразных реакций, а ферменты обладают специфичностью, в клетках растений имеется до 800 разных ферментов.

Ферменты являются очень специфическими биологическими катализаторами белковой природы. По химической природе ферменты разделяются на однокомпонентные и двухкомпонентные.

Однокомпонентные ферменты представляют собой простой белок, обладающий каталитическими функциями: например, гидролитические ферменты, которые производят разложение сложных соединений с участием воды (уреаза, пепсин и др.). Многие из этих ферментов выделены в кристаллическом виде [2].

Двухкомпонентные ферменты состоят из простетической группы и белка. Некоторые ферменты имеют одинаковую простетическую группу, но разные белки. Если у каталазы отделить простетическую группу от белка и перенести ее на белок пероксидазы, то получается фермент пероксидаза. Следовательно, специфичность фермента зависит от его белковой части [17].

Все ферменты растений разделены на группы по типу катализируемой реакции, которая в сочетании с названием субстрата является основой для названия фермента. Все ферменты делят на 6 классов:

- оксидоредуктазы,
- трансферазы,
- гидролазы,

- лиазы,
- изомеразы,
- лигазы или синтетазы.

Классы ферментов делят на подклассы, подподклассы и отдельные ферменты.

Оксидоредуктазы – окислительно-восстановительные ферменты – играют большую роль в процессе дыхания растений. Вещество может окисляться, присоединяя кислород или отдавая водород.

Полифенолоксидаза катализирует окисление моно-, ди-, и полифенолов. При помощи полифенолоксидаза связано образование темноокрашенных соединений – меланинов при окислении кислородом воздуха аминокислоты тирозина [12].

Каталаза катализирует разложение пероксида водорода по реакции самоокисления-самовосстановления. В живом организме каталаза обладает защитными свойствами клетки от пагубных воздействий перекиси водорода. Источником получения промышленных препаратов каталазы являются культуры микроорганизмов и печень крупного рогатого скота.

Липоксигеназа катализирует окисление полиненасыщенных высокомолекулярных жирных кислот (линолевой и линоленовой) кислородом воздуха с образованием гидроперекисей.

Глюкозооксидаза окисляет глюкозу с образованием глюконовой кислоты. Высокоочищенные препараты глюкозооксидазы получают из плесневых грибов рода *Aspergillus* и *Penicillium* [5].

Каталаза – класс ферментов – оксидоредуктаз, – это двухкомпонентный фермент, который как и все ферменты состоит из белка (апофермент) и соединенной с ним простетической группы (кофермент). Кофермент содержит гематин, в состав которого входит железо.

Под влиянием каталазы происходит процесс разложения перекиси водорода, который накапливается в процессе дыхания, на воду и

молекулярный кислород. Свою большую активность каталаза проявляет в молодых жизнеспособных тканях и органах растений. С процессом старения тканей и при снижении их жизнеспособности, активность каталазы уменьшается. Изменение качества и активности окислительно-восстановительных ферментов каталазы и пероксидазы является показателем реакции растительного организма к неблагоприятным факторам окружающей среды и для оценки приспособления растений к условиям существования (уравнение (1)).



Процесс окисления происходит при помощи цитохромов, и дает побочный продукт, который оказывает пагубное воздействие на клетки. От негативного влияния защищает фермент каталаза. Биологическая роль каталазы заключается в деградации перекиси водорода, которая образуется в клетках в результате действия ряда флавопротеиновых оксидаз (ксантиноксидазы, глюкозооксидазы, моноаминоксидазы и др.), и обеспечения защиты клеточных структур от разрушения под действием перекиси водорода [10].

Каталаза находится в тканях животных, человека, растениях и микроорганизмах, но фермент не содержат некоторые анаэробные микроорганизмы. В клетках каталаза локализуется в специальных органеллах – пероксисомах [18].

Открытие каталазы также связано с перекисью водорода. Еще Л. Тенар, который открыл перекись водорода в 1818 г. и заметил каталитическую активность по отношению к этому веществу животных тканей. В 1907 г. было установлено, процесс происходит при помощи каталазы. В кристаллическом виде получить ее удалось только через 30 лет из печени быка. Каталаза – активный фермент, молекула которого разлагает в секунду 6 миллионов молекул перекиси водорода. Но что интересно, когда концентрация перекиси водорода становится незначительной, каталаза начинает катализировать реакцию окисления

перекисью водорода спиртов, формальдегидов и нитратов. Фермент не должен простаивать.

Есть еще один фермент, в состав которого входит железо и катализирует процесс разложения перекиси водорода, это пероксидаза, которая входит в состав слюны, в соке поджелудочной железы, в печени, почках и в лейкоцитах. В плазме крови присутствует особая пероксидаза, которая участвует в реакциях некоторых производных перекиси водорода. Следует заметить, что этот фермент широко распространен в живой природе.

С каталазой и пероксидазой связывают получение высокоэффективных препаратов для лечения злокачественных опухолей, так как полагают, что эти ферменты играют важную роль в росте клеток [9].

1.3 Факторы окислительного стресса и возможности их индикации с помощью активности ферментов

Химический состав растений, как известно, отражает элементный состав почв. Поэтому избыточное накопление тяжелых металлов растениями обусловлено, прежде всего, их высокими концентрациями в почвах. В своей жизнедеятельности растения контактируют только с доступными формами тяжелых металлов, количество которых, в свою очередь, тесно связано с буферностью почв. Однако способность почв связывать и инактивировать тяжелых металлов имеет свои пределы, и когда они уже не справляются с поступающим потоком металлов, важное значение приобретает наличие у самих растений физиолого-биохимических механизмов, препятствующих их поступлению [4].

Окислительный стресс представляет собой процесс, возникающий в результате повышенных концентраций активных форм кислорода (АФК) в клетках организма, и является ключевой частью реакции организма на стресс окружающей среды и имеет сложный и разнообразный метаболизм. Окислительный стресс приводит к ряду негативных эффектов, наиболее

распространенными из которых являются изменения клеточных структур, нарушение цитозольных и митохондриальных ферментов, истощение системы антиоксидантной защиты, изменение состава метаболитов и другие изменения. Основным источником активных форм кислорода в клетках являются дыхательные цепи митохондрий и пластид. Это объясняется тем, что в дыхательной цепи происходит «утечка» электронов из ферментных комплексов, благодаря чему часть поступающего кислорода переходит в активную форму, а часть АФК идет на окислительную модификацию макромолекул.

Распространенным стрессовым фактором для растений является избыток тяжелых металлов в почве. Присутствие тяжелых металлов вызывает нарушения роста и развития растений, способствует повреждению липидных мембран, белков и нуклеиновых кислот в клетках и в конечном итоге приводит к повышенному образованию АФК и окислительного стресса. Такие изменения приводят к усилению активности защитных систем растительного организма [1].

Чувствительным индикатором антропогенного загрязнения почв является ее ферментативная активность. Ведущую роль в почвенной биодинамике занимают оксидоредуктазы и гидролазы. Ферменты, принадлежащие к группе оксидоредуктаз, ускоряют окислительно-восстановительные реакции, которые играют значительную роль в биохимических процессах почвы и в клетках живых организмов.

Несмотря на ограниченный набор коферментов, оксидоредуктазы способны ускорять большое количество различных видов окислительно-восстановительных реакций. Это происходит благодаря способности соединяться активных групп с другими неактивными группами ферментов, в результате чего образуется всегда оксидоредуктаза, аналогичная по отношению к тому или иному раствору.

Из класса оксидоредуктаз значимую часть занимают окислительно-восстановительные ферменты: каталаза, дегидрогеназа, полифенол-оксидаза, пероксидаза.

Окислительно-восстановительные ферменты участвуют в разложении токсических соединений перекиси водорода (каталаза), формировании почвенного плодородия (пероксидаза, полифенолоксидаза). Эти ферменты реагируют на воздействие неблагоприятных факторов среды, в частности, на воздействие тяжелых металлов, обладающих сильными окислительно-восстановительными свойствами.

Одним из ведущих механизмов устойчивости растений к тяжелым металлам является синтез в клетке малочувствительных к тяжелым металлам ферментов с другими структурами, которые позволяют действовать в этих условиях.

Это происходит за счет изменений в расположении упорядоченности аминокислот, которые не оказывают влияния на активные центры ферментов, не влияют на их каталитические свойства [12].

Все это приводит к созданию более устойчивых ферментов к подавляющему действию тяжелых металлов. Главная роль в защите растений от негативного действия тяжелых металлов отводится антиоксидантным ферментам (каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза), которые в свою очередь, увеличивают активность в этих условиях.

Известно, что ферменты, иммобилизованные на почвенных частицах более устойчивы к воздействию разрушающих факторов. Следовательно, это оказывает нейтрализацию пероксидов и свободных радикалов, которые образуются под воздействием тяжелых металлов.

Губительная для живых микроорганизмов и растений перекись водорода образующуюся в процессе биологического окисления разлагается на воду и молекулярный кислород с помощью каталазы.

Каталаза – относится к гемопротеидам, в активном центре, которого находится двухвалентное железо. Фермент – каталаза широко

распространен в растениях (пероксисомах, митохондриях), в клетках животных и в почвенной биоте. Поскольку фермент имеет низкое сродство к перекиси водорода, он начинает функционировать только при относительно высоких ее концентрациях в среде. Замечено, что активность каталазы вниз по профилю мало изменяется, она обратно пропорциональна влажности почв и прямо пропорциональна температуре. Характерная особенность фермента по отношению к субстрату, т.е. к восстановителю незначительна, следовательно, он может катализировать не только расщепление перекиси водорода, а также способствует окислению низкомолекулярных спиртов и нитритов.

Роль каталазы в растениях заключается в том, что она разрушает ядовитую для клеток перекись водорода, накапливаемую в процессе жизнедеятельности, на воду и молекулярный кислород. По интенсивности и количеству выделяемого кислорода судят об активности каталазы. Она наиболее активна в молодых жизнеспособных тканях и органах растений. С возрастом тканей, а также при снижении их жизнеспособности, активность этого фермента закономерно падает. Данный фермент ингибируется синильной кислотой, сероводородом, фторидами. Повышение активности антиоксидантных ферментов приводит к усилению защиты растений от окислительного стресса и более высокой их устойчивости к абиотическим факторам городской среды [17].

Под действием тяжелых металлов происходит снижение активности каталазы, ввиду нарушений в строении почвенных микроорганизмов, которые прослеживаются в искажения показателей ферментативной активности почвы. Тяжелые металлы способны изменять чувствительность фермента к субстрату, и переводить его в водорастворимое состояние, что, в свою очередь, отражается на скорости реакции. Снижение активности каталазы играет отрицательную роль для почвы, т.к. нарушается расщепление перекиси водорода, которая образуется при биологическом окислении. Однако выявлено, что действие тяжелых металлов на

ферменты проявляется выборочно, т.е. при одном и том же содержании металлы понижали активность одних ферментов и не изменяли активность других ферментов.

Пероксидаза при помощи перекиси водорода и органических перекисей ускоряет окисление органических химических соединений, которые образуются из ненасыщенных жирных кислот, каротиноидов. Фермент способствует переносу кислорода от молекулы субстрата к перекиси. Субстратами пероксидазы являются многие соединения – фенолы, нитриты, ароматические кислоты, анилин, толуидин, аскорбиновая кислота и другие соединения.

При этом задача фермента заключается в активировании перекисей, т.к. они проявляют слабое окисляющее действие на фенолы. В дальнейшем цикле может протекать процесс конденсации хинонов с пептидами и аминокислотами, из которых образуется первичная молекула гуминовой кислоты, что в свою очередь способна усложняться за счет повторных конденсаций. Вышеперечисленные реакции играют важную роль в процессе образования гумуса [20].

Фермент не только принимает участие в циклах почвы, фотосинтеза и дыхания растений, но и играет главную роль в защите растений от инфекционных заболеваний. Отмечено, что уровень повреждения растений, концентрация фенолов и активность пероксидазы находятся в положительной корреляции. Отмечено, что переработка интактного неповрежденного материала находится ниже уровня окислительных процессов по сравнению с переработкой инфицированного растительного сырья [21].

Действие пероксидазы регулируется с помощью ионов следующих металлов – Mn, Zn, Cu, Ca и др. Их наличие отражается на соотношении собственно оксидазной, оксигеназной и пероксидазной активности. Цианиды и хелаты ведут к уменьшению активности пероксидазы [22].

При действии тяжелых металлов отмечается повышение активности фермента. Образующаяся перекись водорода при их действии стимулирует активность пероксидазы, что является одним из компонентов реакции.

Полифенолоксидаза – медьсодержащий фермент. Он, как и пероксидаза ускоряет процессы окисления молекулярного кислорода. Фермент катализирует не только разнообразные реакции полифенолов, но и монофенолов (в частности, тирозина), одифенолов с образованием соответствующих хинонов и распадом его в более низкомолекулярные соединения. Полифенолоксидаза занимает ведущее место в образовании гумуса, который является буфером и накопителем токсичных элементов. Уровень активности фермента, служит показателем ускорения процессов минерализации гумуса.

Также процесс дыхания растений служит промежуточным звеном в системе «полифенол–хинон» при окислении органических соединений. Наблюдается отличительная особенность активности полифенолоксидазы в онтогенезе растений на окислительный стресс при нанесении вредного воздействия [24].

При воздействии тяжелых металлов происходит уменьшение активности полифенолоксидазы, ввиду удаления меди из активного центра фермента. Это ведет к нарушению процессов образования органических соединений ароматического ряда в компоненты гумуса. Что, в свою очередь, приводит к снижению плодородия почвы.

По данным литературы невозможно сделать однозначные выводы относительно влияния разных металлов на активность антиоксидантных ферментов. Активность ферментов, в большей степени, зависит от продолжительности воздействия токсичных ионов. Выявлены также отличия в активности антиоксидантных ферментов в зависимости от органа.

Выводы по первой главе

В исследованиях, посвященных поиску новых методов защиты растений от окислительного стресса, появляется необходимость в индикации этого процесса, то есть в установлении ответной реакции организма на воздействие стресса. Таким индикатором может стать активность каталазы.

В первой главе была рассмотрена характеристика ферментов, их реакции на воздействие внешних факторов, а также их роль в биоиндикации растений. Можно сказать, что под биологической индикацией понимается оценка качества природной среды, которая производится по морфофункциональному состоянию живых организмов, в ней обитающих. Экологические основы биологической индикации состоят в том, что любой организм обладает как генетически обусловленными, так и филогенетически приобретенными особенностями, определяющими его способность переживать те или иные факторы. Следовательно, у каждого живого организма есть диапазон, в рамках которого он развивается оптимально. За пределами этого диапазона наблюдаются различные нарушения, которые и регистрируются в процессе биологической индикации [14].

Распространенным стрессовым фактором для растений является избыток тяжелых металлов в почве. Присутствие тяжелых металлов вызывает нарушения роста и развития растений, способствует повреждению липидных мембран, белков и нуклеиновых кислот в клетках, и, в итоге, приводит к повышению образования АФК и, что приводит к окислительному стрессу. Такие изменения ведут к усилению активности защитных систем у растительного организма.

Однако не надо забывать, что причины подобных изменений могут быть различны и методы биоиндикации позволяют оценить лишь общую техногенную нагрузку.

ГЛАВА 2 ОПИСАНИЕ ОБЪЕКТОВ БИОИНДИКАЦИИ И УСЛОВИЙ ИХ ПРОИЗРАСТАНИЯ

2.1 Анатомическое и биологическое описание используемых древесных растений в качестве биоиндикаторов

Как известно, городская среда оказывает негативное воздействие на состояние растительности. Растительные организмы обладают широким спектром защитно-приспособительных реакций, способствующих развитию их устойчивости к разнообразным стрессовым факторам внешней среды. Способность растений сопротивляться экстремальным условиям произрастания, приспосабливаться к ним и сохранять при этом свой жизненный потенциал является одним из определяющих условий существования растений и зависит от возможности реализовать защитно-приспособительные механизмы, то есть адаптироваться к разнообразным стрессовым воздействиям. Таким образом, растения могут быть использованы как объекты биоиндикации антропогенной нагрузки в городской среде [5].

Липа является одной из показательных пород. Она чувствительно реагирует на усиление антропогенной нагрузки изменением ряда физиологических параметров и может быть использована как вид-индикатор при осуществлении биомониторинга городских территорий.

Береза повислая используется в качестве биоиндикатора, довольно часто, так как он массовый и распространенный. Входит в состав разнообразных биотопов (экосистем), его ареал включает степные и лесостепные зоны в Скандинавии, в Средней и Атлантической Европе, в Средиземноморье, на Балканах, Западной Сибири и на Алтае.

2.1.1 Липа сердцевидная

Очень часто в озеленении городов используют такие древесные породы, как ель, сосна, лиственница, тополь, клен, береза, вяз, липа и др.

Липа сердцевидная распространена в Европе, европейской части России (кроме крайнего Севера и Северо-Востока), в лесной зоне Кавказа в западных районах Западной Сибири в среднем и нижнем течении Иртыша и смежных районах.

Название липа сердцевидная произошло от латинского и греческого языков: «*tileia*» – липа, латинское «*cordatue*» – сердцевидный, что связано с формой листьев.

Липа сердцевидная имеет достаточно большую высоту, которая достигает до 30 м. Ствол дерева мощный с раскидистой кроной. Кора темного окраса приближенного к черному цвету и имеет глубокотрещиноватость. Молодые ветви красно-бурого цвета и обычно голые.

Листья липы сердцевидной очередные, длинночерешковые, сердцевидной формы. Длина листовенной пластины достигает 5–10 см. Цвет листы темно-зеленый, голые, сверху пильчатые, с длиннозаостренной верхушкой, симметричные, очень редко неравнобокие, ширина почти такая, как и длина. Снизу листья имеют окрас сизовато-зеленого цвета, пучки окрашены в желтовато-бурый цвет.

Цветки желтовато-белого цвета, душистые и ароматные, их диаметром составляет до 10 мм, собираются по 3–15 штук в форму полузонтиков. При каждом соцветии есть бледный желтовато-зеленый удлиненно-ланцетовидный тонкий прицветный лист, длина которого составляет 6 см, до половины своей длины сросшийся с цветоносом.

Плод – орех диаметром 4–8 мм, имеет шаровидную форму, войлочно-опушенный, с деревянистой или кожистой оболочкой, бурого окраса.

Семена яйцевидной формы, длина которых составляет 4–5 мм, блестящие, красно-бурого цвета. Цветет в конце июня или в начале июля. Цветение продолжается в течение двух недель, полностью плоды созревают в августе – сентябре.

В цветках липы содержится эфирное масло – до 0,05 %, в состав которого входят спирт фарнезол, гликозиды – гесперидин и тилиацин, флавоноидные гликозиды кверцетин и кемпферол, дубильные вещества, сапонины, витамин С, каротин, слизь. Листья липы содержит много белка, витамина С и каротина. В плодах содержится около 60 % жирного масла [15].

2.1.2 Береза повислая

Результаты многолетних биохимических и морфологических исследований свидетельствуют, что у берёзы повислой низкая активность ферментов, повышенная водоудерживающая способность и высокая ксеро-морфность, что способствует лучшей приспособленности вида к неблагоприятным условиям урбосреды и особенно загрязнению ксенобиотиками.

Выявлена прямая зависимость между уровнем загрязнения, жизненным потенциалом и показателем стабильности развития. В районах с техногенной нагрузкой наблюдалось очень низкое (до 50 %) жизненное состояние березы повислой, а показатель стабильности развития – высокий, достигающий до критического уровня [8].

Береза (*Betula L.*) ее видов насчитывается в мире около 120 видов. Они незначительно отличаются друг от друга. Самыми известными и распространенными являются приземистая, пушистая и повислая березы.

Береза – дерево, высота которого может достигать 20 м. Ствол у березы прямой, белого цвета и гладкой структуры, с характерными черными линиями на коре, нижняя часть ствола окрашена в черный цвет. У молодых деревьев кора окрашена в коричневатый цвет. Ветви тонкие, со смолистыми бородавками, густые и хорошо развитые. У старых деревьев ветви повислые.

Листья длинночерешковые, гладкие с обеих сторон, треугольной или ромбовидно-яйцевидной формы, широкие у основания и заостренные на конце, длиной 2–3 см. У молодых деревьев листья клейкие и душистые.

Почки появляются ранней весной и окрашены в красновато-бурый цвет, удлинённой формы, смолистые и вяжущие на вкус.

Береза – однодомное дерево, которому характерно пестичные – женские и тычиночные – мужские сережки, которые отличаются между собой:

- пестичные сережки пазушные, прямостоячие, длина их 2,5–3 см, размещены по одной на коротких боковых ветвях;

- тычиночные сережки повислые, длина которых 5–6 см, расположены по 2–3 штуки на концах веток [16].

Цветет береза в апреле–мае, в период когда распускаются листья. Мужские цветки начинают развиваться еще осенью и остаются на зиму, женские же появляются во время распускания листьев. Пестичные цветки соединены по 2–3 штуки, имеют трехлопастную чешуйку, прикрывающую 3 двугнездных пестика с 2 нитевидными рыльцами. Тычиночные цветки состоят из раздвоенных тычинок и 1–2 листочков околоцветника [9].

Плоды созревают в августе-сентябре. Одна сережка содержит около 500 семян. Плод – односемянный плоский орешек подолговато-эллиптической формы, с 2 крылышками, которые в 2–3 раза больше самого орешка. Семена переносятся ветром и хорошо адаптируются, попав на сухую или увлажненную, песчаную, суглинистую, черноземную или каменисто-щебнистую почву. Растет дерево быстро, прекрасно возобновляется порослью и самосевом.

Береза любит свет и плохо переносит затемнения, с легкостью адаптируется к различным климатическим условиям. Растет в лесной и лесостепной зонах Европейской части России и Сибири. Очень распространена в парках, садах, часто растет около дорог. Продолжительность жизни березы примерно 100–120 лет.

Береза часто образует производные леса на месте вырубленных или сгоревших сосновых, еловых, дубовых и лиственных лесов. Она очень

быстро заселяет освободившееся место, но со временем вытесняется другими породами деревьев [15].

2.2 Описание точек отбора проб

Челябинск – административный центр Челябинской области, расположенный на Южном Урале. Территория города находится на восточном склоне Уральских гор, на 200 км южнее Екатеринбурга, на высоте около 200–250 м над уровнем моря. Климат – умеренный континентальный. Город находится на границе Урала и Сибири.

Вследствие того, что Челябинск является промышленным городом с большим количеством заводов, экологическая ситуация в городе является особенно острой. В экологическом рейтинге общественной организации «Зеленый патруль» Челябинская область, вместе с Челябинском, за период зимы 2021–2022 гг. заняла 80 место из 85 [3].

В отчётах Росгидромета и министерства экологии Челябинской области за 2020 г. отмечено, что уровень загрязнения воздуха в городе — повышенный. Средняя годовая предельно допустимая концентрация (ПДК) зафиксирована у формальдегида и фторида водорода, а периодическое превышение норм фиксировалось у диоксида азота, оксида углерода, бензапирена, фенола, сероводорода, этилбензола, бензола, свинца, марганца и взвешенных веществ. За 2016–2020 гг. отмечено повышение концентраций оксида углерода, формальдегида, фторида водорода, аммиака, ксилолов, этилбензола, толуола, никеля, хрома. Экология Челябинска характеризуется постоянным объявлением дней с неблагоприятными метеоусловиями (НМУ), которые возникают при штиле и слабом ветре, из-за чего происходит скопление выбросов в нижнем слое атмосферы. Имеется негативная тенденция, так как в 2021 г. 52 % дней (190 дней из 365) сопровождалась НМУ, а в 2020 г. — 180 дней.

В 2015 г. в атмосферу Челябинска было выброшено 257,42 тыс. т загрязняющих веществ: 113,15 тыс. т от автотранспорта (44 % от общего

количества) и 144,27 т от промышленных предприятий. Самыми главными предприятиями, загрязняющими воздух в Челябинске, являются: ЧМК – 46,6 %, Фортум (городские ТЭЦ 1, ТЭЦ 2, ТЭЦ 3 и ГРЭС) – 14,7 %, ЧЭМК – 6,3 %, цинковый завод – 3 % [7].

В черте города расположены несколько озер: Смолино, Первое и Второе, Шелюгино и Шершнёвское водохранилище. Шершнёвское водохранилище – источник питьевой воды для города, согласно отчёту Росприроднадзора, имеет высокое органическое загрязнение, а качество исходной воды не соответствует в 8 из 12 взятых проб в 2021 г. Роспотребнадзор заявлял, что купание на всех водоёмах Челябинска является опасным. Р. Миасс, протекающая через город, подвергается влиянию сточных вод городских очистных сооружений и предприятий, что выразилось в 2020 г. в периодических превышениях ПДК по азоту аммония, азоту нитритов, азоту нитратов, фосфатам (по фосфору), железу общему, никелю, мышьяку, меди, цинку, марганцу, нефтепродуктам.

В 2015 г. промышленные предприятия сбросили 186,1 млн м³ загрязнённых стоков в водоёмы и реку, а речной сток после города более чем на 90 % состоит из сточных вод. Основные загрязнители реки – МУП «ПОВВ» (81,7 %) и ЧМК (10,7 %) [19].

Основными источниками загрязнения почвы являются промышленные и бытовые отходы, а также автотранспорт. В результате анализа за 2015 г., в почвах Челябинска было найдено превышение нормативов по цинку (18,2 % проб), мышьяку (11 %), свинцу (4,1 %), кадмию (2,4 %), марганцу (2 %) и меди (1,1 %).

Исторически в Челябинске была крайне сложная ситуация со складированием бытовых отходов, так как городская свалка, официально закрытая в 1992 г., продолжала работать в связи с отсутствием альтернативы, она была закрыта в сентябре 2018 г. В 2015 г. твёрдые бытовые отходы города составили 559,8 тыс. т. Размер свалки составлял 0,75 км², а высота достигала 40 м. Вдобавок к критической

ситуации с выбросами в атмосферу, периодически на свалке до 2020 г. происходили пожары, которые приводили к образованию неприятного запаха на территории города [23].

Направление, скорость и сила ветра являются важнейшим фактором для формирования уровня качества окружающей среды в городских условиях. Максимальные скорости ветра в Челябинске находятся в пределах 21–24 м/с. Зафиксированы случаи со скоростью ветра до 40 м/с.

Как видно из рисунка 1 основным направлением ветра в Челябинске является западный (23 %). Кроме того, преобладающими направлениями ветра можно назвать южный (16 %) и юго-западный (16 %). Самый редкий ветер в Челябинске – восточный (5 %).

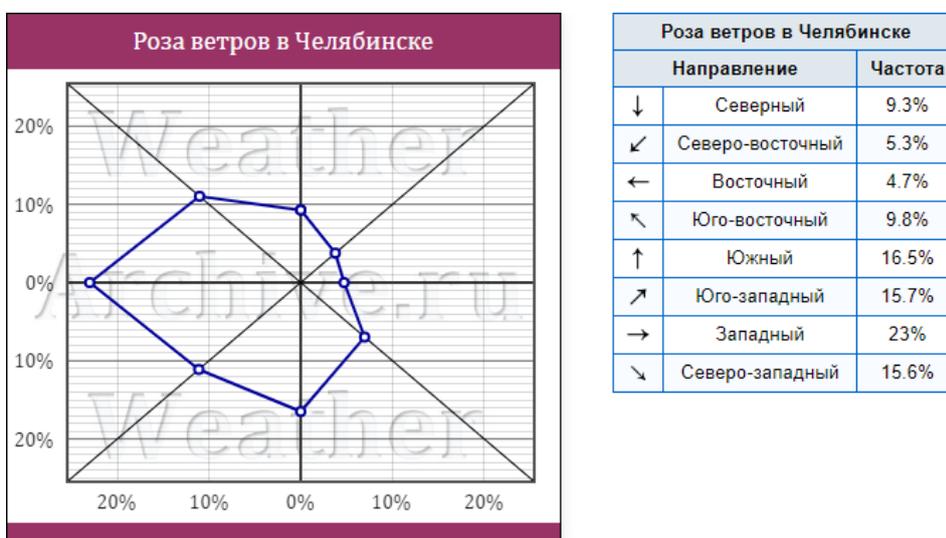


Рисунок 1 – Роза ветров в г. Челябинск за 2022 г.

2.2.1. Центральный район

- Челябинский городской бор (в районе улицы Лесопарковая),
- пересечение улиц Свердловский проспект и Воровского.

На рисунке 2 представлен Центральный район Челябинска – деловой и культурный центр города. Его площадь составляет 44 км². Здесь сосредоточены все главные достопримечательности Челябинска. Также к центральному району относятся: самый большой парк (им. Гагарина), городские пляжи на оз. Шершни и самый экологически чистый жилой район – Тополиная аллея. К еще одному плюсу района можно отнести

хорошо развитую транспортную систему, но с другой стороны, это может являться и недостатком – постоянно заполненные до отказа парковки и большой объем выброса выхлопных газов от автотранспорта.

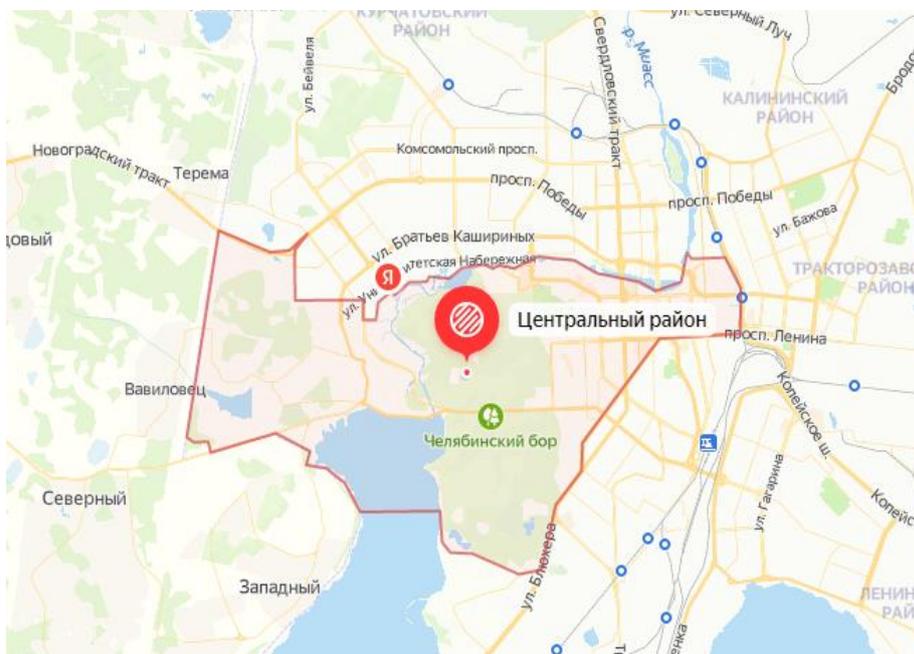


Рисунок 2 – Центральный район г. Челябинск [25]

2.2.2. Советский район

- Городской сад им. Пушкина,
- в районе автовокзала «Южные ворота».

На рисунке 3 представлен Советский район – один из 7 районов Челябинска, в 2017 г. отметивший восьмидесятилетний юбилей, расположен на юго-западе города. Его площадь составляет 78 км². В настоящее время район занимает пятую часть города Челябинск. Советский район самый «поселковый» из районов города. Его называют «созвездием поселков» (Исаково, Новосинеглазовский, Смоленский, Федоровка, Сосновка, АМЗ, Локомотивный, Маяковского, им. Урицкого, им. Дмитрия Донского, Таловка, станция Шершни и др.) [25].

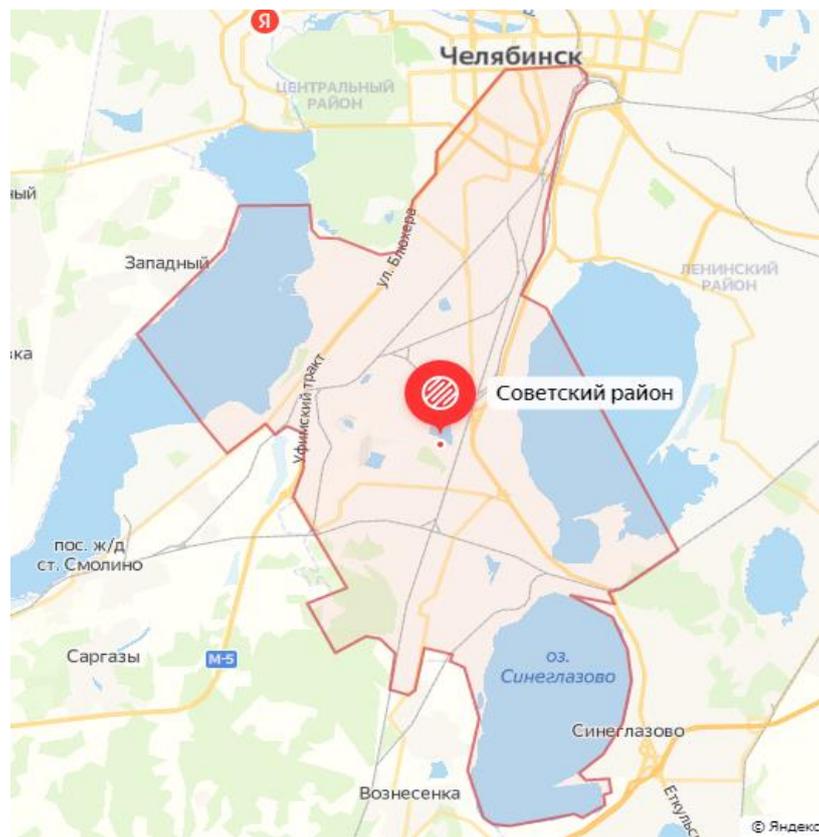


Рисунок 3 – Советский район г.Челябинска [25]

2.2.3. Ленинский район

- ПКиО Монастырская заимка Плодушка,
- пересечение улиц Гагарина и Руставели.

На рисунке 4 представлен Ленинский район (площадь 75км²) – это один из самых загрязненных районов города Челябинска. На территории района расположено много стационарных источников загрязнения воздуха. К основным таким источникам относится ЧТПЗ, ТЭЦ-1, ЧКПЗ. Также сильно загрязнено оз. Смолино, где превышено содержание тяжелых металлов и других вредных веществ. Содержание вредных веществ, вызванные антропогенным воздействием, превышает пределы допустимых значений в 3–8 раз.

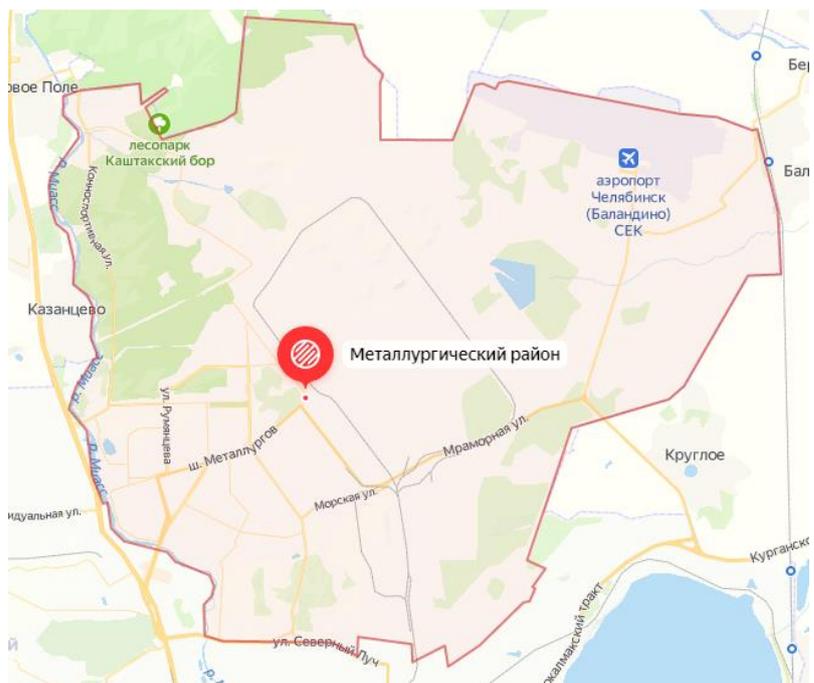


Рисунок 5 – Metallургический район г.Челябинска [25]

2.2.5. Калининский район

- улица Болейко;
- пересечение улиц Российская и проспекта Победы.

На рисунке 6 представлен Калининский район. Один из 7 внутригородских районов Челябинска. Его площадь – 45 км². Район отличается от других многими специфическими чертами. Например, в отличие от других районов, он резко поделен на промышленную и жилую зону.

На его территории расположены: Челябинская ГРЭС, Челябинский абразивный завод и Челябинский электрометаллургический комбинат.

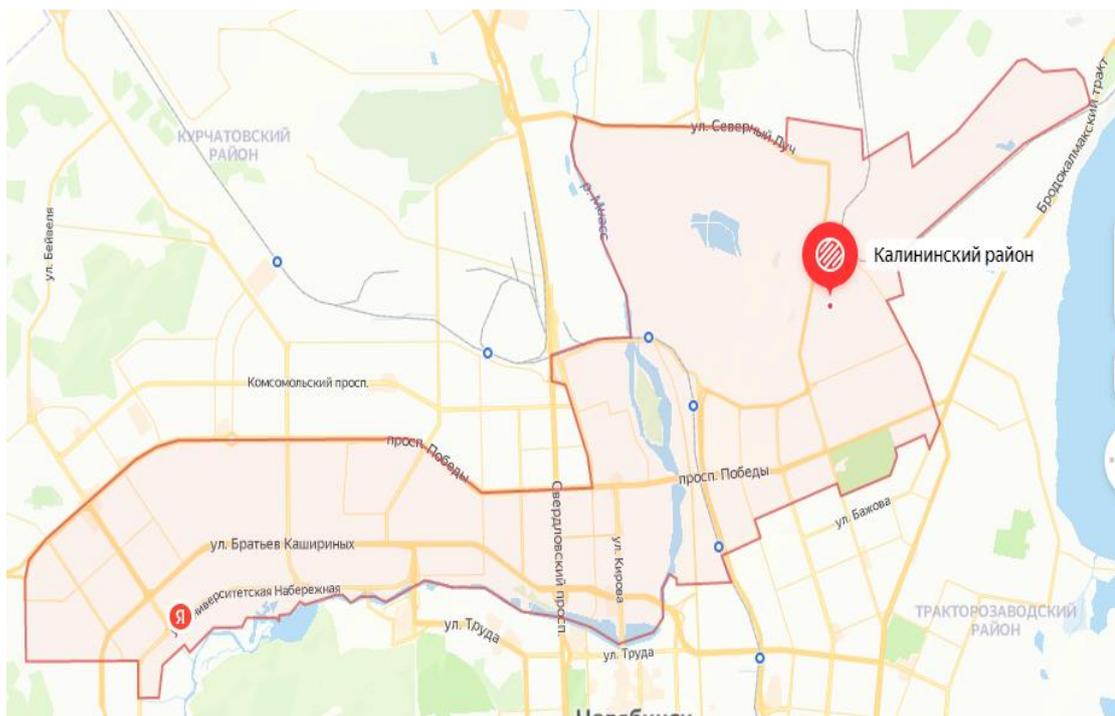


Рисунок 6 – Калининский район г. Челябинска

2.2.6. Курчатовский район

- Северо-Западный парк,
- пересечение улиц 40-летия Победы и проспекта Победы.

На рисунке 7 представлен Курчатовский район. На территории района находятся крупнейшие предприятия ОАО «Челябинский цинковый завод», ОАО «Челябвтормед», ЗАО обувная фирма «Юничел», ОАО «Хлебпром», промышленная группа «Метран», Челябинский электровозоремонтный завод и др. Кроме того, Курчатовский район является одной из ведущих строительных площадок города. Также из Курчатовского района начинается большинство маршрутов общественного транспорта. Площадь Курчатовского района – 60,1 км² [25].

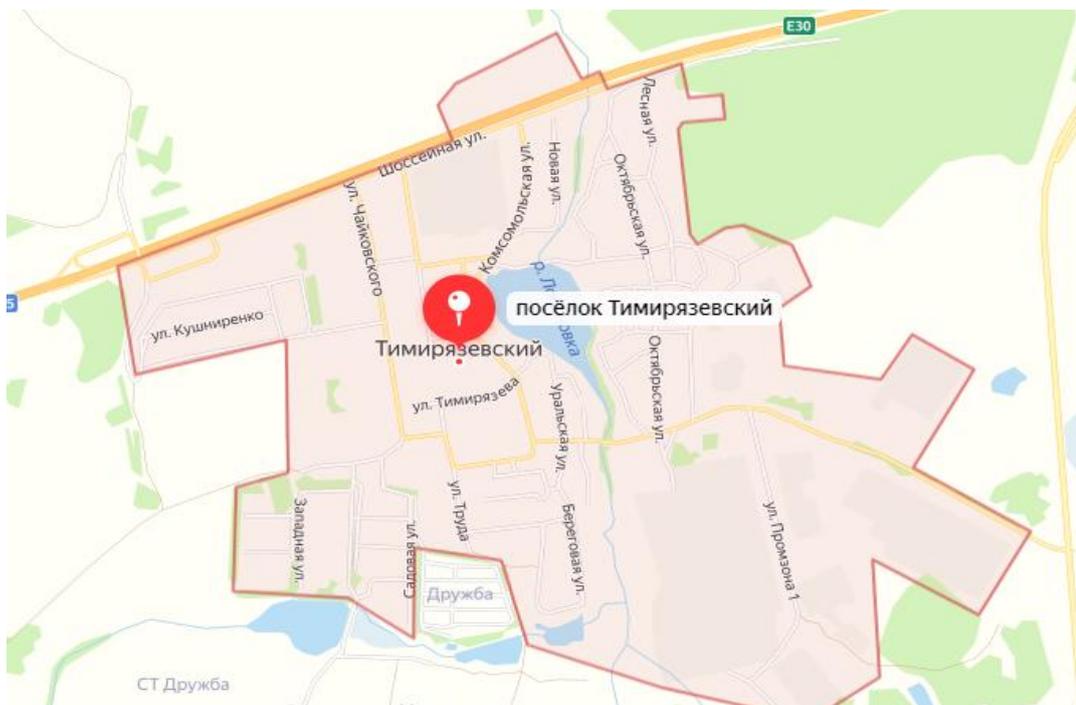


Рисунок 8 – посёлок Тимирязевский [25]

Вывод по второй главе

Нами были рассмотрены биологические описания исследуемых деревьев, а также описание мест отбора проб. Было выяснено, что липа и береза являются наиболее подходящими для анализа активности каталазы и выявление зависимости этой активности от состояния окружающей среды. Липа сердцелистная чувствительно реагирует на усиление антропогенной нагрузки изменением ряда физиологических параметров и может быть использована как вид-индикатор при осуществлении биомониторинга городских территорий. Береза повислая также хорошо справляется с техногенной нагрузкой в условиях городской среды, являясь чувствительным и информативным индикатором качества.

Для наиболее достоверных результатов в каждом районе было отобрано две точки отбора проб: более и менее техногенно-нагруженные. В качестве фоновой (контрольной) точки выбран пос. Тимирязевский Чебаркульского района, так как он достаточно отдален от города, а, следовательно, его территория не находится под сильным техногенным влиянием.

ГЛАВА 3 АНАЛИЗ И РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ

3.1 Результаты лабораторных исследований

В качестве исследуемого материала были взяты 13 проб почек липы и 13 проб почек березы с Центрального, Советского, Ленинского, Metallургического, Калининского и Курчатовского районов (рисунок 9). За контрольную точку мы взяли пос. Тимирязевский (рисунок 10) [25].

Материалом для анализа выбраны именно почки растений, так как, содержащая в них образовательная ткань наиболее чувствительна к действию техногенных и антропогенных факторов.

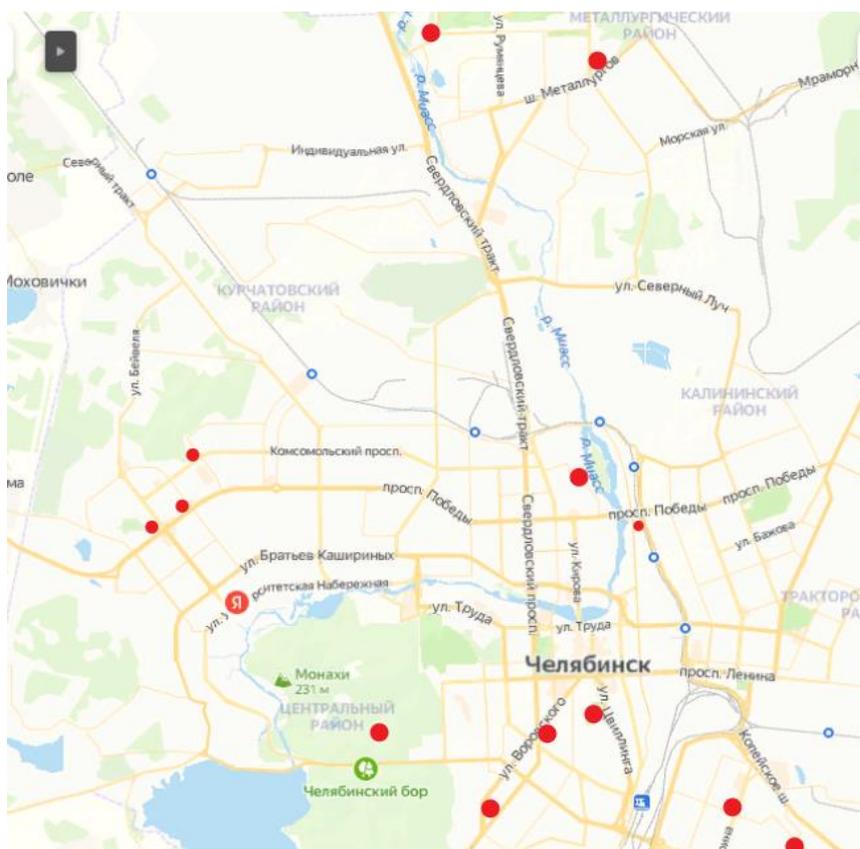


Рисунок 9 – Расположение точек отбора проб в г. Челябинск [25]

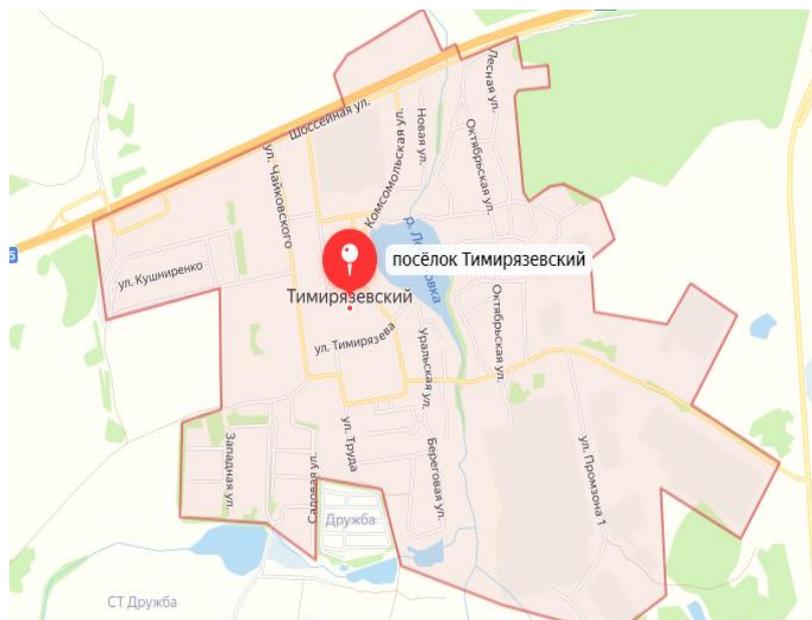


Рисунок 10 – Расположение контрольной точки

Определение активности каталазы указанным методом основано на получении водного экстракта фермента из биологического материала, после чего в течение определённого времени проводится ферментная реакция при добавлении к раствору пероксида водорода водного экстракта каталазы. По окончании ферментной реакции в реакционной среде определяется количество пероксида водорода, которое не разложилось под действием фермента, титрованием в кислой среде раствором перманганата калия согласно следующей реакции (уравнение (2)):



Одновременно с анализируемой пробой проводится контрольное определение количества пероксида водорода, оставшегося неразложившимся после проведения реакции с пероксидом водорода инактивированного фермента. В данной реакции происходит частичное разложение пероксида водорода неферментативным путём. По разнице между титрованием контроля и анализируемой пробы определяется количество пероксида водорода, которое подверглось разложению на воду и кислород под действием каталазы, и полученный результат используют для расчёта каталитической активности фермента. Полученные результаты приведены на рисунках 11 и 12.

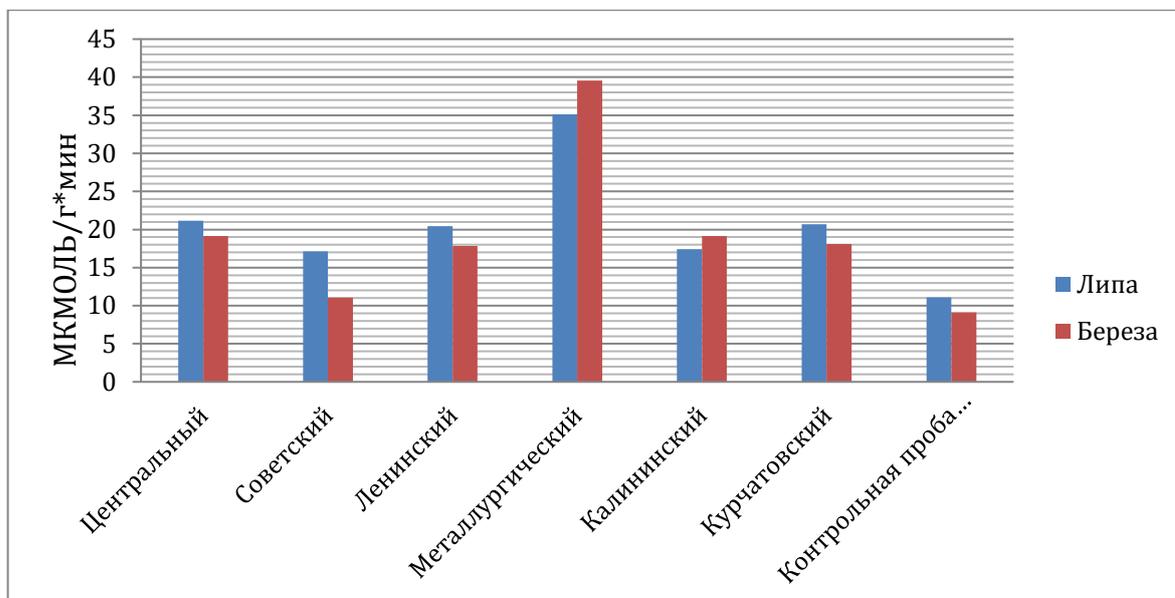


Рисунок 11 – Диаграмма активности каталазы в почках липы и березы в точках, расположенных вблизи зоны парка

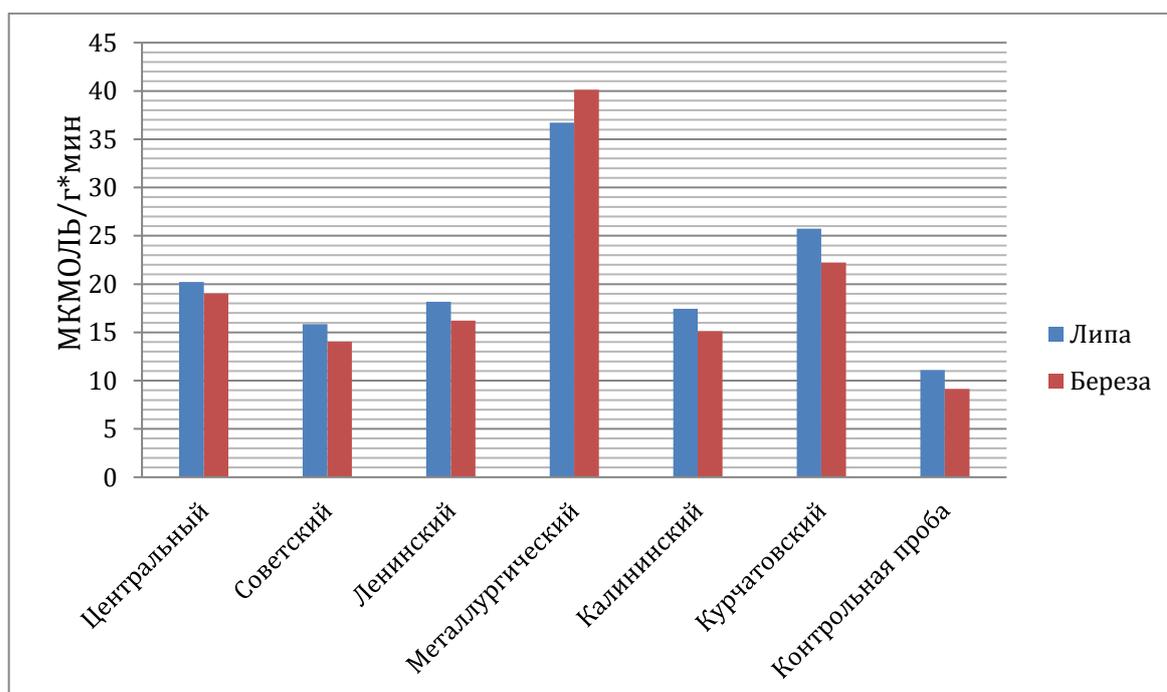


Рисунок 12 – Диаграмма активности каталазы в почках липы и березы в точках, расположенных вблизи транспортных магистралей

Известно, что повышение активности каталазы свидетельствует об устойчивости растения, это повышение может объясняться своеобразной защитной реакцией организма на неблагоприятные условия среды. Для анализа липа и береза выбиралась в пределах 35–40 лет.

С помощью различных методов можно оценить уровень окислительного стресса в разных его проявлениях: концентрация и выраженность разных видов активных форм кислорода; окислительное повреждение биомолекул; активность антиоксидантных ферментов.

По результатам полученных данных видно, что высокая активность каталазы в Metallургическом районе наблюдается в зонах, вблизи парка, а также вблизи транспортных магистралей. Экологическая обстановка в Metallургическом районе г. Челябинска формируется под влиянием выбросов ряда промышленных предприятий, крупнейшим из которых является ОАО «Челябинский металлургический комбинат» (ЧМК), а также выбросов автотранспорта. На экологическое состояние растительности, в том числе в Metallургическом районе, влияет неблагоприятное направление розы ветров. Для селитебной части района неблагоприятными являются относительно редкие ветры северо-восточного (5 %) и восточного (3 %) направлений, при которых усиливается влияние ЧМК [8].

Сравнение с контрольной точкой показывает, что все районы города испытывают антропогенную нагрузку. На диаграмме можно увидеть, что наиболее благоприятная ситуация в Советском районе вблизи зоны парка и вблизи транспортных магистралей. Это обусловлено с отсутствием вблизи отбора проб промышленных предприятий и благоприятным расположением с позиции розы ветров.

В Metallургическом и Калининском районах в точках, расположенных вблизи зоны парка видим, что у липы окислительный стресс выше, чем у березы. Это обусловлено тем, что в точках отбора проб не были выявлены березы возраста 35–40 лет, поэтому объекты были в районе 30 лет. Выбор биологического объекта при использовании в качестве биоиндикатора древесных растений определяется не только состоянием дерева, но также их возрастом и жизненностью [13].

В Курчатовском районе в точке, расположенной вблизи транспортной магистрали, активность каталазы превышает данное

значение, по сравнению с точкой удаленной от транспортной магистрали, что свидетельствует о высокой транспортной нагрузке в данном районе.

Полученные результаты показывают, что активность каталазы в почках березы в среднем выше, чем в почках липы, что обусловлено видовыми особенностями данных биоиндикаторов.

Таким образом, липа и береза в городских условиях могут быть использованы как объекты биоиндикации общей антропогенной нагрузки.

Выводы по третьей главе

К основным ферментам-антиоксидантам клеточных защитных систем относятся супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза, поэтому по активности данных ферментов можно сделать вывод о наличии окислительного стресса у древесных растений и степени антропогенной и техногенной нагрузки на изучаемую территорию.

Для выбора объекта необходимо провести предварительную оценку состояния растений (возраст, жизненность) выбранных для организации исследования.

Полученные данные свидетельствуют о высокой техногенной нагрузке в Metallургическом районе и наиболее благоприятной ситуации в Советском районе, что соответствует данным представленным в отчете министерства экологии.

Также по результатам исследования установлено, что растения расположенные вдоль транспортных магистралей Курчатовского района испытывают повышенную антропогенную нагрузку.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При интерпретации полученных данных по активности каталазы в почках листовых видов следует учитывать, что почки – это ежегодно обновляемый орган, чутко реагирующий на различные неблагоприятные факторы, приуроченные только к периоду вегетации. При ослаблении жизненного состояния активность каталазы уменьшается.

Стоит отметить, что характер изменения активности каталазы специфичен и необходимо дальнейшее изучение динамики данного показателя в различных тканях и органах растений в течение вегетационного периода.

Таким образом, на основании проведенного анализа, мы сделали следующие выводы:

1. На основании анализа литературы нами выявлено, что методы биоиндикации дают комплексное представление о состоянии окружающей среды, совокупности факторов. Ферментативная активность является одним из чувствительных показателей, по которому мы можем оценить антропогенную нагрузку в участках отбора проб.

2. Воздействие различных факторов окружающей среды, таких как засуха, тяжелые металлы, выхлопные газы автотранспорта, экстремальные температуры, ультрафиолетовое излучение, пестициды и инфекция патогенными микроорганизмами, приводит к окислительному стрессу у растений, который, в свою очередь, влияет на биологические процессы посредством образования АФК и повышения активности каталазы, которая зафиксирована во всех районах города. Максимальные значения получены в пробах из Metallургического района.

3. Наиболее тяжелая ситуация наблюдается в Metallургическом районе, а наиболее благоприятная в Советском районе, что соответствует данным представленным в отчете министерства экологии. Также полученные результаты свидетельствуют о том, что все районы города

Челябинск испытывают антропогенную нагрузку обусловленную деятельностью предприятий города и высокой транспортной нагрузкой.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Алехина Н. Д. Физиология растений : учебник для вузов / Н. Д. Алехина, Ю. В. Балнокин, В. Ф. Гавриленко [и др.]; под ред. И. П. Ермакова. – 2-е изд., испр. – Москва : Изд-й центр «Академия», 2007. – 640 с.
2. Бузмаков С. А. Проблемы и примеры экспериментального изучения антропогенной трансформации природной среды и экосистем / С. А. Бузмаков // Сборник «Антропогенная трансформация природной среды». III НИУ. – 2015. – С. 13–24.
3. Бухарина И. Л. Эколого-биологические особенности древесных растений в урбанизированной среде / И. Л. Бухарина, Т. М. Поварницина, К. М. Ведерников. – Ижевск : ИЖГСХА, 2007. – 216 с.
4. Воскресенский В. С. Изменение активности окислительно-восстановительных ферментов у древесных растений в условиях городской среды / В. С. Воскресенский, А. Л. Воскресенская // Вестник Марийского государственного технического университета. Серия: Лес. Экология. Природопользование. – 2011. – №1. – С. 75–82.
5. Гуртяк А. А. Оценка состояния среды городской территории с использованием березы повислой в качестве биоиндикатора / А. А. Гуртяк, В. В. Углев // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. – 2010. – № 1. – С. 200–204.
6. Иваныкина Т. В. Актуальность биоиндикации растений в условиях техногенного загрязнения / Т. В. Иваныкина // Вестник Амурского государственного университета. Серия: Естественные и экономические науки. – 2010. – № 51. – С. 81–83.
7. Израэль Ю. А. Экология и контроль состояния природной среды / Ю. А. Израэль. – Липецк : Гидрометеиздат, 1984. – 560 с.
8. Карпун Н. Н. Механизмы формирования неспецифического индуцированного иммунитета у растений при биогенном стрессе /

Н. Н. Карпун, Э. Б. Янушевская, Е. В. Михайлова // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – № 5. – С. 540–549.

9. Кириллов С. Н. Комплексная геоэкологическая оценка территории Волгограда / С.Н. Кириллов, Ю. С. Половинкина // Вестник Волгогр. гос. университета. Сер. 3, Экономическая экология. – 2011. – № 1. – С. 239–245.

10. Кочуров Б. И. Экодиагностика и сбалансированное развитие : учебное пособие / Б. И. Кочуров. – Смоленск : Маджента, 2003. – 384 с.

11. Коэн Ф. Регуляция ферментативной активности / Ф. Коэн. – Москва : Наука, 1986. – 154 с.

12. Кретович В. Л. Биохимия растений : учебник для биологических факультетов / В. Л. Кретович. – Москва : Высшая школа, 1980. – 445 с.

13. Ляшко О. А. Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды : учебное пособие. – Санкт-Петербург : ГТУРП, 2012. – 67 с.

14. Мандра Ю. А. Биоиндикационная оценка состояния окружающей среды города Кисловодска на основе анализа флуктуирующей асимметрии / Ю. А. Мандра, Р. С. Еременко // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2010. – Т. 12. – № 1-8. – С. 1990–1994.

15. Николаевский В. С. Методы оценки состояния древесных растений и степени влияния на них неблагоприятных факторов / В. С. Николаевский, Н. Г. Николаевская, Е. А. Козлова – Москва : МГУЛ, 1999. – №2 (7). – С.76 – 77.

16. Николаевский В. С. Экологическая оценка загрязнения среды и состояния наземных экосистем методами фитоиндикации / В. С. Николаевский. – Москва : МГУЛ, 1999. – 193 с.

17. Серебрякова Н. Е. Диагностика жизнеспособности древесных растений г. Нижнекамска по активности фермента каталазы /

Н. Е. Серебрякова, М. А. Карасева, В. Н. Карасев, Ю. В. Граница // Российский журнал прикладной экологии. – 2015. – №4 (4). – С. 39–43.

18. Соколова К. И. Определение активности каталазы в почках древесных растений / К. И. Соколова, А. В. Конакова, С. В. Мухаметова // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. – 2019. – №11 (38). – С. 22–24.

19. Титов А. Ф. Устойчивость растений и фитогормоны / А. Ф. Титов, В. В. Таланова. – Петрозаводск: Изд-во Карельского научного центра, 2009. – 206 с.

20. Туровцев В. Д. Биоиндикация: учебное пособие / В. Д. Туровцев, В. С. Краснов. – Тверь: Твер. гос. ун-т, 2004. – 260 с.

21. Фонотов М. Городская география: экспериментальное учебное пособие для учащихся основной школы / М. Фонотов. – Челябинск: История моего города, 1999. – 77 с.

22. Фролов А. К. Окружающая среда крупного города и жизнь растений в нем / А. К. Фролов. – Санкт-Петербург: Наука, 1998. – 328 с.

23. Хомич В. А. Экология городской среды: учебное пособие для вузов / В. А. Хомич. – Омск: Издательство СИБАДИ, 2002. – 267 с.

24. Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и её регуляции / Ф. М. Шакирова. – Уфа: Гилем, 2001. – 160 с.

25. Яндекс Карты: Челябинск // Яндекс Карты [сайт]. – URL: <https://yandex.ru/maps/56/chelyabinsk/?ll=61.453888%2C55.181473&z=14> (17.05)

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Титриметрический метод определения активности каталазы

по А. Н. Баху и А.И. Опарину

Оксидоредуктазы – класс ферментов катализирующих окислительно-восстановительные реакции. Окисление мономеров, образующихся в процессе катаболизма полимеров, представляет собой сложный многоступенчатый процесс.

Окисление веществ в клетках протекает, в основном, путем отщепления водорода (дегидрированием) или отщеплением электронов или путем присоединения кислорода к молекуле окисляемого соединения.

Акцепторами водорода у дегидрогеназ является НАД⁺, НАДФ, ФАД и ФМН, у некоторых флавиновых – кислород (их называют оксидазами), у гемсодержащих (пероксидаз и каталазы) – H_2O_2 (пероксид водорода).

Акцепторами и переносчиками электронов являются цитохромы, содержащие гем (гемопротейны).

Каталаза относится к гемопротейнам, катализирует процесс разрушения ядовитого для клеток пероксида водорода на воду и кислород: (уравнение (1.1))



Для живой клетки пероксид водорода является сильным ядом, поэтому все ферменты образующие и обезвреживающие H_2O_2 находятся в пероксисомах – органеллах покрытых мембраной. Главными потребителями H_2O_2 являются пероксидазы, которые окисляют фенолы, амины, некоторые гетероциклические соединения и др. субстраты дегидрированием, переносят снятые с субстратов $[2H]$ на H_2O_2 , восстанавливая его до $2 H_2O$. Молекулы пероксида водорода, неостребованные пероксидазами, обезвреживаются каталазой.

Метод определения активности каталазы основан на определении количества пероксида водорода, расщепленного в процессе инкубации с

ферментом. Количество H_2O_2 в реакционной смеси определяют титрованием в кислой среде раствором с концентрацией перманганата калия 0,02 моль/л (уравнение (1.2)):



На основании приведенного уравнения реакции можно рассчитать, что 1 мл раствора с концентрацией перманганата калия 0,02 моль/л соответствует 1,7 мг (50 мкмоль) пероксида водорода [8].

Активность каталазы выражают в мкмоль пероксида водорода, расщепившегося под действием фермента в расчете на 1 г исследуемого материала (или на 1 мг вытяжки из него) за 1 мин. Вычисление ведут по формуле (1.1):

$$X = \frac{(a-b) \cdot T \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 20 \cdot 30} \quad (1.1)$$

где X – активность каталазы, Е/г;

$(a-b)$ – разность между объемами раствора с концентрацией перманганата калия 0,02 моль/л, пошедшего на титрование контрольной (a) и опытной (b) проб, мл;

T – титр примененного для титрования раствора перманганата калия;

50 – коэффициент пересчета на мкмоль H_2O_2 ;

100 – общий объем приготовленного экстракта;

m – масса взятого для анализа материала, г;

20 – объем фильтрата, взятого для анализа, мл;

30 – время инкубации, мин.

Активность каталазы можно определить и по объему кислорода, выделившегося после прибавления к исследуемому объекту H_2O_2 .

Ход работы. 2–3 гр почки растительного дерева тщательно растирают в ступке с кварцевым песком или стеклом. Для уменьшения кислой реакции добавляют на кончике скальпеля $CaCO_3$ до прекращения выделения пузырьков CO_2 . В процессе растирания в ступку добавляют небольшими порциями 40–50 мл воды. Растертую массу количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят водой до метки

и перемешивают. Смесь оставляют стоять 10–15 мин и после перемешивания фильтруют.

Берут две конические колбы объемом 150–200 мл и вносят в них по 20 мл полученного фильтрата. Содержимое одной колбы кипятят в течение 1 мин и охлаждают до комнатной температуры (контроль). Другая колба опытная содержит активный фермент. К содержимому опытной и контрольной колб добавляют по 20 мл воды и по 3 мл раствора с массовой долей H_2O_2 1 %.

Содержимое тщательно перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 30 мин. По окончании инкубации в обе колбы добавляют по 5 мл раствора с массовой долей серной кислоты 10 %, перемешивают и избыток H_2O_2 в каждой колбе оттитровывают раствором с концентрацией перманганата калия 0,02 моль/л до образования розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.