

ВПЛИВ СУБСТРАТІВ ВІДВАЛУ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ НА ВМІСТ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ ТА АКТИВНІСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ У *SORGHUM HALEPENSE* (L.) PERS

З. БЕШЛЕЙ¹, С. БЕШЛЕЙ², В. БАРАНОВ¹, О. ТЕРЕК¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна.
e-mail: zirka_blb2@ukr.net

²Інститут екології Карпат НАН України, вул. Стефаника 11, м. Львів, 79005, Україна.

У роботі досліджено зміни вмісту пероксиду водню і активності пероксидази в 30- та 120-добових рослин *Sorghum halepense* (L.) Pers (довгокореневищного злаку родини тонконогових (Poaceae), який розмножується як насінням, так і кореневищами) за умов росту на субстратах відвалу Центральної збагачувальної фабрики «Червоноградська», із додаванням у них нетрадиційних органічних та мінеральних добрив – глауконіту і відходів дріжджового виробництва. У результаті проведених експериментів встановлено обернену залежність між активністю пероксидази та вмістом пероксиду водню у тканинах 30- та 120-добових рослин сорго алевського, які росли на різних субстратах. Ця закономірність є природною адже в умовах стресу збільшується активність пероксидази, яка активує розщеплення пероксиду водню до кисню та води, запобігаючи тим самим його токсичному ефекту. Показано, що у 120-добових рослин *S. halepense* вміст пероксиду водню та активність пероксидази у більшості варіантів були практично на рівні контролю, що пов'язано із формуванням адаптаційних перетворень у рослин протягом тривалого існування в умовах стресу. При внесенні нетрадиційних добрив у субстрати відвалу відбувалися зміни їх фізико-хімічних властивостей, що вплинуло на вміст пероксиду водню та активність пероксидази у рослин. Отримані експериментальні дані можуть бути основою для аналізу стійкості рослин та створення системи заходів із коригування продуктивності цих рослин в умовах техноекосистем, покращення їх фіторемераційних властивостей за допомогою використання не лише традиційних добрив а й як показують наші дослідження нетрадиційних добрив, які зменшать собівартість рекультиваційних робіт.

Ключові слова: пероксид водню, пероксидаза, субстрати відвалів вугільних шахт, глауконіт, відходи виробництва дріжджів, *Sorghum halepense*.

Вступ. Проблема рекультивації техногенних ландшафтів особливо актуальна у районах видобутку природних ресурсів, зокрема вугілля. Відвали шахтних порід створюють серйозні екологічні проблеми, оскільки їх субстрати мають кислу реакцію середовища, містять важкі метали та інші ксенобіотики і полютанти в концентраціях, що перевищують гранично допустимі концентрації у кілька порядків (Книш, Харкевич, 2003; Баранов, 2008). Одним із дієвих екологічних способів відновлення техногенних ландшафтів є фіторекультивация (Геник, 2008). При фіторекультивации породних відвалів збагачувальних фабрик і шахтних териконів рослини піддаються комплексному впливу ряду стресових факторів: підвищеній кислотності середовища, дії ксенобіотиків, промислових полютантів, незбалансованості макро-, мезо- та мікроелементного складу середовища, недостатнього і нерівномірного зволоження, перепаду температур (Рыктор и др., 2011).

Світовий досвід фіторекультивации порушених земель вказує на те, що можна використовувати різні культури, в тому числі і злакові. У США і

Канаді (провінції Онтаріо, Альберта, Британська Колумбія) злакові травосуміші висівають для закріплення поверхні відвалів, запобігання водній і вітрової ерозії. Посадка та ріст на відвалах злакових культур пришвидшує розвиток ґрунтоутворювального процесу, інтенсифікує нагромадження гумусу, забезпечує диференціацію «ґрунтового» профілю (Лукина и др, 2008). Для покращення умов едафотопу техногенного ландшафту і стимуляції ростових процесів рослин – фітомеліорантів ряд авторів пропонує використовувати як традиційні, так і нетрадиційні добрива (Баранов та ін., 2010).

Наші попередні роботи були присвячені дослідженню участі злакових у фітомеліорації субстратів відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району (Баранов та ін., 2012). Результати цих досліджень показали високий адаптаційний потенціал злакових в умовах шахтних відвалів. Рослини не лише виживали за токсичного впливу субстратів відвалів, а й зберігали досить високі ростові показники. Враховуючи літературні дані, було вирішено дослідити морфометричні та біохімічні

показники рослин сорго *Sorghum halepense* (L.) Pers за умов росту на субстратах породного відвалу Центральної збагачувальної фабрики «Червоноградська», із додаванням у них нетрадиційних органічних та мінеральних добрив – глауконіту і відходів дріжджового виробництва.

Матеріали та методи досліджень. Об'єктом дослідження були рослини сорго алепського *Sorghum halepense* (L.) Pers, довгокореневищного злаку родини тонконогових (Poaceae), який розмножується як насінням, так і кореневищами (Warwick, Black, 1983).

Для моделювання техногенного едафотопу використовували субстрати породних відвалів Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ). Колір субстратів, з яких сформований відвал, є червоний (перегоріла порода зі зміненими структурно-текстурними особливостями, різноманітних відтінків, що свідчить про складні літологічні та петрографічні перетворення, які відбувалися у процесі термального “метаморфізму”) і чорний (не перегоріла порода, для якої характерний природний чорно-сірий колір) (Баранов та ін., 2012) (Рис.1).

До цих техногенно забруднених субстратів додавали нетрадиційні добрива – глауконіт і відходи виробництва дріжджів Львівського дріжджового заводу (у співвідношенні 50 г на 1000 г субстрату відвалу). Субстрат змішували з добривами, вносили у дерев'яні ящики і висівали насіння *S. halepense*. Аналізували 30- та 120-

добові рослини. Контролем слугували рослини, що росли на торфі.

Активність пероксидази визначали за швидкістю реакції окиснення бензидину. Її активність виражали в умовних одиницях на грам маси сирової речовини (ум. од./г маси сирової речовини) (Гавриленко и др., 1975). Вміст пероксиду водню визначали спектрофотометрично у рослинному екстракті після реакції із сульфатом титану (Di Torri et al., 1999). Виразали вміст H_2O_2 у мг на грам маси сирової речовини (Li-Men Chen, Ching-Huei Kao, 1999). Отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу (Лакин, 1990).

Результати та обговорення. В умовах дії стресора збереження життєздатності організму відбувається шляхом підвищення неспецифічної опірності в результаті прояву адаптаційного синдрому як захисної реакції організму в стані стресу. Отримані експериментальні дані можуть бути основою для аналізу стійкості рослин та створення системи заходів із коригування продуктивності цих рослин в умовах техноекосистем (Рыктор и др., 2011).

Пероксид водню є сигналом для активації захисних систем, активатором експресії генів і процесів, що призводять до формування стійкості у рослин (Polidoros, Scandalois, 1999). Результати дослідження вмісту пероксиду водню в тканинах надземних органів 30- та 120-добових рослин *S. halepense* за умов росту на субстратах відвалів з додаванням у них глауконіту та відходів дріжджового виробництва наведені на рисунку 2.

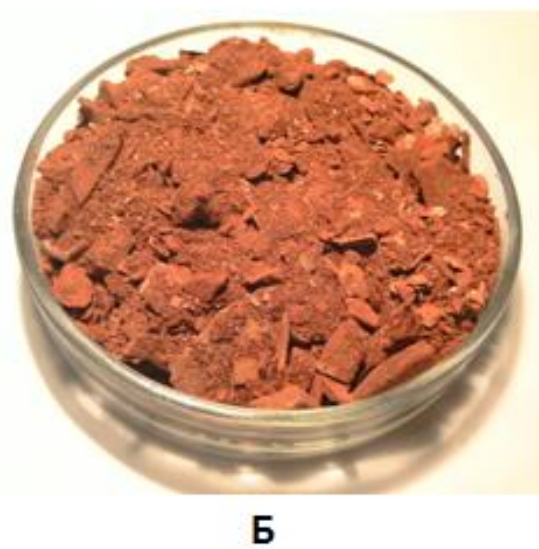


Рис.1. Зовнішній вигляд чорної (А) та червоної (Б) порід

Fig. 1. The appearance of black (A) and red (B) rocks

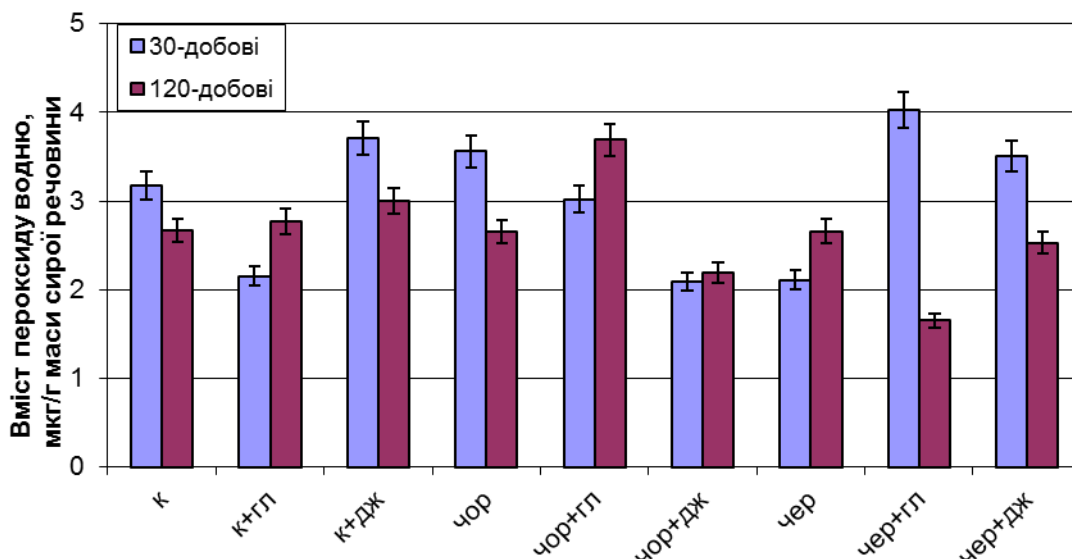


Рис. 2. Вміст перексиду водню у 30- та 120-добових рослин *Sorghum halepense* за умов росту на субстратах відвалу з додаванням глауконіту та відходів дріжджової промисловості.

Примітка (тут і надалі): к – контроль, к+гл – контроль + глауконіт, к+дж – контроль + відходи дріжджової промисловості, чор – чорна порода, чор+гл – чорна порода + глауконіт, чор+дж – чорна порода + відходи дріжджової промисловості, чер – червона порода, чер+гл – червона порода + глауконіт, чер+дж – червона порода + відходи дріжджової промисловості.

У результаті проведених досліджень встановлено, що у деяких варіантах дослідів відбувалося зменшення вмісту сигнальної молекули H_2O_2 у 120-добових рослин сорго алепського, порівняно з 30-добовими. Це, можливо, пов'язано як із збільшенням активності ферментів антиоксидантного захисту (зокрема пероксидази), так і з формуванням адаптаційних перетворень протягом тривалого часу росту рослин в умовах стресу. За умов росту *S. halepense* на чорній та червоній породі спостерігалась протилежна тенденція до збільшення вмісту H_2O_2 у тканинах рослин: його вміст зростав на чорній породі та знижувався на червоній, що, можливо пов'язано із фізико-хімічними властивостями цих субстратів. При додаванні глауконіту та відходів дріжджового виробництва у різні субстрати в більшості варіантів у 30-добових рослин *S. halepense* спостерігалось зменшення вмісту H_2O_2 , порівняно із 120-добовими рослинами, що, вочевидь, пов'язано із сорбційними властивостями та значним вмістом органічних речовин, макро- та мікроелементів, у складі нетрадиційних добрив. Протилежна закономірність спостерігалась при додаванні

Fig. 2. The content of hydrogen peroxide in the 30- and 120-day plants of *Sorghum halepense* under the conditions of growth on dump substrates with a trace of glauconite and waste yeast industry.

Note (hereinafter): к – control, к+гл – control + glauconite +, к+дж – control + waste yeast industry, чор – black rock, чор+гл – black rock + glauconite, чор+дж – black rock + waste yeast industry, чер – red rock, чер+гл – red rock + glauconite, чер+дж – red rock + waste yeast industry.

глауконіту та відходів дріжджового виробництва до субстрату червоного кольору (спостерігалось збільшення вмісту H_2O_2 у 30-добових і зменшення у 120-добових рослин). При додаванні глауконіту та відходів дріжджового виробництва до субстратів відвалів у тканинах 120-добових рослин *S. halepense*, які росли на цих субстратах спостерігалась протилежна тенденція за вмістом перексиду водню.

Дослідження основних механізмів дії техногенних субстратів на рослини та ролі антиоксидантної системи останніх у процесах адаптації дасть змогу розробити нові підходи для підвищення стійкості рослин і розробки нових методів фітореMediaції (Пацула, 2008). Пероксидаза є ферментом антиоксидантної системи, гетерогенною за складом, що зазнає значної мінливості під дією несприятливих умов середовища, в тому числі техногенного забруднення (Стаценко и др., 2008). Відомо, що такі ферменти, як пероксидаза та каталаза можуть моделювати гомеостаз перексиду водню, і, відповідно, його сигнальну здатність. Пероксидаза активує розщеплення перексиду водню до кисню та води, запобігаючи тим самим його токсичному ефекту.

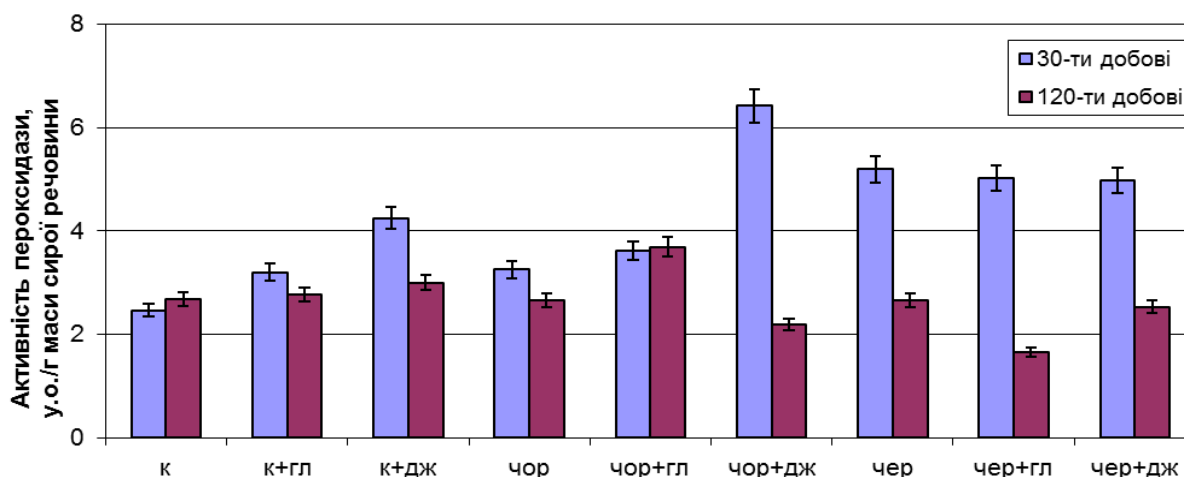


Рис. 3. Активність пероксидази у 30- та 120-добових рослин *Sorghum halepense* за умов росту на субстратах відвалу з домішкою глауконіту та відходів дріжджової промисловості.

Fig. 3. Peroxidase activity in the 30- and 120-day plants of *Sorghum halepense* under the conditions of growth on dump substrates with a trace of glauconite and waste yeast industry.

Отримані результати, представлені на рис. 3, засвідчують, що активність пероксидази зростала у 30-добових рослин сорго алепського за умов росту на різних субстратах, порівняно із 120-добовими рослинами, що пов'язано із активацією ферментів антиоксидантного захисту на початкових етапах дії стресових факторів. За росту *S. halepense* на чорній та червоній породі спостерігали збільшення активності пероксидази у його тканинах порівняно із контролем.

Найбільша активність пероксидази зафіксована у 30-добових рослин сорго алепського за росту на чорному субстраті із додаванням дріжджів ($6,42 \pm 0,39$ у.о./г маси сирої речовини). У 120-добових рослин спостерігали зменшення активності пероксидази при додаванні у субстрати відвалу ЦЗФ нетрадиційних добрив, що, можливо, пов'язано із змінами фізико-хімічних властивостей техносубстратів.

Висновок. У ході досліджень встановлено обернену кореляцію між вмістом пероксиду водню та активністю пероксидази у тканинах досліджуваного об'єкта за умов росту на різних субстратах. Показано, що у 120-добових рослин *S. halepense* вміст пероксиду водню та активність пероксидази у більшості варіантів були меншими ніж у 30-добових, що пов'язано із формуванням адаптаційних перетворень у рослин протягом тривалого існування в умовах стресу. При додаванні нетрадиційних добрив у субстрати відвалу протягом 120 днів відбувалися зміни фізико-хімічних властивостей техноедафотопу, що вплинуло на вміст пероксиду та активність пероксидази у *S. halepense*.

Список літератури:

1. Баранов В. І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ "Львівсистеменерго" як об'єкта для озеленення // Вісн. Львів. ун-ту, Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 172-178.
2. Баранов В., Бешлей С., Телегус Я. Деякі біохімічні показники адаптації куничника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) до умов едафотопу відвалів вугільних шахт // Вісник ЛНУ. 2012. Вип. 58. С. 292-299.
3. Баранов В. І., Гавриляк М. Я., Телегус Я. В. Зміни вмісту сірки, вільних амінокислот і білка в рослинах ріпаку, підживлених капсульованими добривами на субстратах породного відвалу вугільних шахт // Біологічні студії / *Studia Biologica*. 2010. Т. 4(№ 1). С. 53-62.
4. Баранов В. І., Книш І. М., Блайда І. А та ін. Очерет звичайний – фіторемедіант важких металів у дренажних канавах породних відвалів вугільних шахт // Біологічні студії / *Studia Biologica*. 2012. Т6(№1). С. 93-100.
5. Гавриленко В. Ф. Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. М.: Высш.школа, 1975. 392 с.
6. Генік Я. В. Порушені території Львівщини та шляхи їх фітомеліорації та рекультивациі. // Науковий вісник НЛТУ України. 2008. Вип. 18.10. С. 22-26.
7. Книш І. Б., Харкевич В. В. Розподіл вмісту хімічних елементів у породах териконів Червоноградського гірничо-промислового району // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. геол. 2003. Вип. 17. С. 148-158.
8. Лакин Г. Ф. Биометрия: Учебное пособие для биол. спец. вузов, 4-е изд. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
9. Лукина Н. В., Чибрик Т.С., Глазырина М.А., Филимонова Е.И. Биологическая рекультивация

- и мониторинг нарушенных промышленностью земель. Екатеринбург, 2008. 256с.
10. Пацула О., Кобилецька М., Терек О. та ін. Оксидативні реакції рослин приушлової ділянки ріки Тиса // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 48. С. 201–204.
 11. Рыктор И. А., Зубкова Ю. Н., Бутюгин А. В. Влияние буроугольных гуминовых удобрений на снижение стрессовой реакции у растений *Festuca pratensis* Huds // Вісник Донецького національного університету, Сер. А: Природничі науки, 2011. № 1. С. 115-122.
 12. Стаценко А. П., Тужилова Л. И., Вьюговский А. А. Растительные пероксидазы – маркеры химического загрязнения природных сред // Вестник ОГУ. 2008. №10(92). С. 188-191.
 13. Di Toppi L., Lambardi M., Pazzagli L. et al. Response to cadmium in carrot in vitro plants and cell suspension cultures // Plant Science. 1999. Vol.137. P.119-129.
 14. Li-Men Chen, Ching-Huei Kao. Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation // Bot. Bull. Acad. Sin. 1999. Vol. 40. P. 283–287
 15. Polidoros A. N., Scandalos J. S. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidant in the regulation of catalase and glutathione-S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.) // Physiologia Plantarum. 1999. Vol. 106. P. 112–120.
 16. Warwick, S.I., Black L.D. The biology of Canadian weeds. 61. *Sorghum halepense* (L.) Pers. Canadian Journal of Plant Science. 1983. 63(4):997-1014.

THE EFFECT OF COAL MINES ROCK DUMP ON THE HYDROGEN PEROXIDE CONTENT AND PEROXIDASE ACTIVITY IN SORGHUM HALEPENSE (L.) PERS

Z. Beshley, S. Beshley, V. Baranov, O. Terek

The research is devoted to changes of hydrogen peroxide content and peroxydase activity in 30- and 120-days-old Sorghum halepense (L.) Pers plants (long-rhizomed cereal from Poaceae family, which reproduces both by seeds and rhizomes) under growth on substrates from Central enrichment plant "Chervonogradska" dump, with the addition of non-traditional organic and mineral fertilizers - glauconite and wastes of yeast production. As a result of experiments it was established inverse relationship between the peroxidase activity and hydrogen peroxide content in the tissues of 30- and 120-days-old Johnson grass plants that were grown on different substrates. This pattern is natural because under stress conditions is peroxidase activity increased, which activates cleavage of hydrogen peroxide to oxygen and water, thus preventing its toxic effects. It is shown that the 120-days-old S. halepense plant content of hydrogen peroxide and peroxidase activity in most variants were almost at the level of control that is associated with the formation of adaptive changes in the plant for a long existence under stress. After addition non-traditional fertilizers into dump substrates, there were changes in their physical and chemical properties that influenced the content of hydrogen peroxide and peroxidase activity in plants. The experimental data can be the basis for the analysis of plant resistance and creation of performance measures for the adjustment of these plants under technoecosystems, improve their fitoremediation properties by using not only traditional fertilizers but, as shown by our study of non-traditional fertilizers, which will reduce the cost of remediation.

Keywords: hydrogen peroxide, peroxidase, substrates of coal mines dumps, glauconite, residues of yeast, Sorghum halepense.

Одержано редколегією 16.06.2014