

МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ЛИСТКАХ РОСЛИН РОДУ *TILIA* L. ЯК МАРКЕР АДАПТАЦІЇ ДО КЛІМАТИЧНИХ УМОВ СТЕПОВОГО ПРИДНІПРОВ'Я

Ю. В. ЛИХОЛАТ, доктор біологічних наук, професор
Н. О. ХРОМИХ, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник
А. А. АЛЕКСЕЄВА, кандидат біологічних наук, молодший науковий
співробітник

Р. Є. ЄФАНОВ, студент

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара
І. П. ГРИГОРЮК, доктор біологічних наук, член-кореспондент НАН України
Національний університет біоресурсів та природокористування
України

E-mail: Lykholat2006@ukr.net

Анотація. Встановлено високу чутливість антиоксидантних метаболічних процесів у листках різних видів роду *Tilia* L. до мінливих кліматичних умов Степового Придніпров'я. Активність каталази була вищою в адаптованих до світла листках *T. platyphyllos* і *T. tomentosa* порівняно із затіненими листками. У той же час, у затінених листках *T. cordata* і *T. amurensis* активність каталази суттєво перебільшувала показник для освітлених листків. Активність ферментів бензидинпероксидази і гваяколпероксидази була нижчою в адаптованих до світла листках у більшості досліджених видів лип. Проте, за умов інтенсивного освітлення спостерігалась активація гваяколпероксидази в листках *T. platyphyllos*, а в листках *T. begoniifolia* – активація бензидинпероксидази. Отримані результати дозволяють зробити припущення, що за збереження тенденцій змін клімату умови середовища існування видів роду *Tilia* L. у степовій зоні будуть скоріше сприятливими, ніж негативними.

Ключові слова: види лип, антиоксидантна система, освітлення, адаптація

Актуальність.

Рослини, які зростають на території Степового Придніпров'я, зазнають негативного впливу як посушливості

клімату, так і забруднення довкілля (Опанасенко V. F. et al., 1998). Флуктуації регіональних температурних та інших кліматичних параметрів упродовж останніх десятиліть асо-

* Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор Ю. В. Лихолат

ціюються, зокрема, зі збільшенням чисельності популяцій адвентивних видів рослин та зростанням їхнього розповсюдження в природних і штучних місцезростаннях на території регіону. Напруженість кліматичних умов у Степовому Придніпров'ї вимагають розширення асортименту видів деревних рослин. Створення стійких насаджень у природних і урбофітоценозах потребує глибокого аналізу адаптаційних можливостей рослин (Khromykh N. et al., 2018). Особливої уваги з цієї точки зору заслуговують рослини роду *Tilia* L., які мають високий фітомеліоративний потенціал та декоративність (Alexeyeva A. A. et al., 2016). В умовах сучасного темпу наростання антропогенного тиску науковий підхід у разі підбору видів деревних рослин для створення стійких, тривалого функціонування зелених насаджень з високими естетичними і санітарно-гігієнічними властивостями є необхідним та актуальним. Розширення асортименту видів деревних рослин ускладнюється посиленням континентальності клімату в поєднанні з суттєвим техногенним навантаженням в урбоценозах Степового Придніпров'я (Savosko V. et al., 2018).

Метою дослідження було з'ясувати видові особливості формування метаболічної адаптації рослин роду *Tilia* L. до зростання освітленості листків за змінами активності антиоксидантних ферментів.

Матеріал і методи досліджень.

Об'єктами досліджень слугували 5 видів і один гібрид роду *Tilia* L., з яких 1 аборигенний – *Tilia cordata* Mill., 5 інтродуковано в Степове Придніпров'я. Серед інтродуцентів широко розповсюджені в культурі *T. platyphyllos* Scop.,

T. ×europaea L., *T. tomentosa* Moench. – аборигенні види лісів Південно-Західної України, а також *T. amurensis* Rupr. і *T. begoniifolia* Stev. – екзоти для Степового Придніпров'я.

Клімат регіону характеризується високою температурою і низькою вологістю повітря, дефіцитом вологи у ґрунті, частими періодами посухи та суховіями влітку. Середньорічна сума атмосферних опадів складає 472 мм, однак у різко посушливі роки знижується до 250 мм; у той же час інтенсивність випаровування вологи у 2-3 рази перевищує кількість опадів.

Для експериментів відбирали освітлені та затінені листки лип у липні на території Ботанічного саду Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара (умовно чиста зона), де компактно розташовані групи 65-70-річних дерев кожного із видів. Їхній відбір проводили в середині дня в сонячну погоду з 5-10 дерев на висоті 2 м. Адаптовані до світла листки відбирали за периметром крони, адаптовані до тіні – в середині крони дерев.

Активність антиоксидантних ферментів визначали в супернатантах, отриманих центрифугуванням (15000 g протягом 20 хв і за температури 4 °C) грубих екстрактів (100 мг свіжих листків гомогенізували 0,2 М TRIS-HCl буфером, рН 7,0 з додаванням 0,1 % полівінілпіролідону, 250 мМ цукрози і 1 мМ $MgCl_2$). Активність ферменту каталази (CAT) вивчали шляхом вимірювання оптичної густини за довжини хвилі 410 нм у реакційній суміші з 0,2 мл ферментного препарату, 0,1 % H_2O_2 і 4 % молібдату амонію. Результати розраховували за калібрувальним графіком і виражали в мМ H_2O_2 /г сирої речовини. Активність ферменту гваяколпероксидази (GPO) оцінюва-

ли шляхом визначення окису гваяколу за довжини хвилі 470 нм у реакційній суміші, яка містила оцтовий буфер (рН 6,0), 2 мМ гваяколу, 0,2 мл зразка, і 0,15 % H_2O_2 . Результати розраховували з урахуванням молярного коефіцієнта екстинкції і виражали в мМ гваякол / г сирої речовини. Активність ферменту бензидинпероксидази (ВРО) визначали за зміною оптичної густини реакційної суміші за довжини хвилі 490 нм (Vinnychenko O. M. et al., 2014).

Результати досліджень отримували в п'ятикратній повторності й обробляли статистичними методами за допомогою програмного пакета Statistica 6.0. За поріг довірчої ймовірності обрано рівень 95 %.

Результати дослідження та їх обговорення.

Толерантність рослин до впливу стресових чинників середовища є результатом комплексних змін функціонування метаболічних процесів на різних рівнях організації. Вони реалізуються завдяки наявності в рослин значної кількості термосенсорів і програмуванню біохімічних та фітогормональних реакцій, що забезпечує акліматизацію до нетривалих коливань температури або адаптацію до її поступових змін (Bahuguna R. N. & Jagadish K. S. V., 2015). Реакції рослин і адаптація до умов довкілля є комплексним біологічним процесом, який включає фізіолого-біохімічні зміни (Granda E. et al., 2014; Harfouche A. et al., 2014).

Оскільки світло є основним джерелом життя для рослин, вони мають багаторівневу систему оптимізації захоплення енергії світла, необхідної для оптимального фотосинтезу незалежно від інтенсивності світла (Самра С et al., 2017). Проте, надмір-

не опромінення може призвести до енергетичного дисбалансу та незворотного пошкодження основних компонентів білкового комплексу фотосистеми II. Процес адаптації рослин до несприятливих умов супроводжується появою специфічних і неспецифічних реакцій на всіх рівнях структурної організації (Mitteler R., 2002). Їх прояв контролюється одночасною дією численних регуляторних механізмів, одним з яких є динаміка активності ферментів антиоксидантної системи (Lykholat Y. et al., 2016).

Важливу роль в адаптації рослин до впливу сонячної радіації та підвищених температур виконують каталаза і пероксидази, дія яких направлена на перетворення пероксиду водню. Каталаза розкладає його на воду та молекулярний кисень, здійснюючи перерозподіл атомів водню між молекулами H_2O_2 , а пероксидаза розкладає H_2O_2 з виділенням активного атомарного кисню й утворенням окислених форм відповідних субстратів (Зайцева І. О. & Долгова Л. Г., 2010).

У наших дослідженнях активність ферменту САТ у листках *T. platyphyllos* і *T. tomentosa* за умов освітлення була вищою у 2,8 і 2,1 рази, ніж у разі затінення (рис. 1). Активність ферменту САТ у затінених листках була суттєво збільшена в *T. cordata* і *T. amurensis* (відповідно у 2,0 і 2,4 рази). Одержані результати узгоджуються з даними (Y. Lykholat et al., 2016) щодо каталазної активації в листках *Q. robur* і *F. excelsior* за вивчення ефектів фотореспірації, викликані підвищеними температурою й освітленням.

Окрім того, низький рівень активності ферменту САТ у затінених листках видів роду *Tilia* L. не може розглядатися як доказ недостатньо

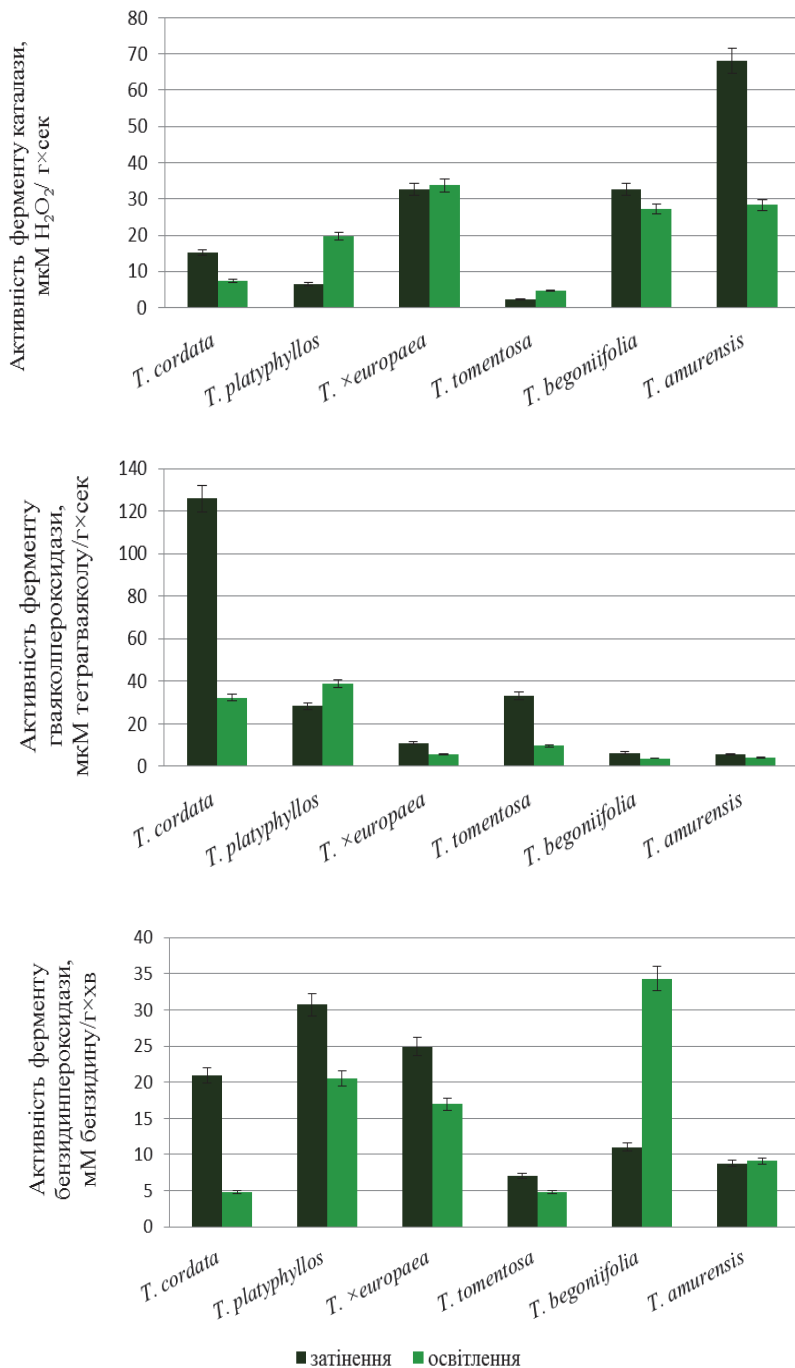


Рис. 1. Активність антиоксидантних ферментів у листках видів роду *Tilia* L. в умовах затінення та освітлення

активної елімінації пероксиду водню. Труднощі в оцінці ролі ферменту САТ полягають у комплексності й надлишковості антиоксидантної системи рослин (Mhamdi A. et al., 2010).

У будь-якому разі, міжвидова мінливість активності ферменту САТ є, безперечно, важливим елементом в адаптивній здатності рослин роду *Tilia* L.

В умовах освітлення активність ферментів ВРО і GPO в листках знижувалася в чотирьох із шести дослідних видів роду *Tilia* L. Проте, за умов освітлення в листках *T. platyphyllos* відбувалася активація ферменту GPO, а в *T. begoniifolia* – ВРО.

Результати відображають складність ролі пероксидази у фізіологічних процесах, як засвідчує низка робіт (Lee B.-R. et al., 2007), стрес-індукована активація пероксидази може бути пов'язана з процесами лігніфікації більшою мірою, ніж із захистом від оксидативного стресу. Стає очевидним, що процеси адаптації рослин роду *Tilia* L. до високого рівня освітлення супроводжуються суттєвими метаболічними перебудовами асиміляційних органів. Необхідно зауважити, що в цьому разі неможливо чітко виокремити освітлення як єдиний екологічний чинник, що їх спричинив, оскільки в природних умовах локальні відмінності стосуються також температури в кроні дерев, вологості повітря та ґрунту.

Висновки і перспективи.

Порівняльний аналіз особливостей адаптованих до світла і затінення листків дозволив передбачити відповіді рослин роду *Tilia* L. на підвищення інтенсивності світла та зростання температури. Припущено, що адаптивні зміни в листках лип можуть зумовлювати помірну активацію пероксидаз з подальшим підвищенням інтенсивності процесів лігні-

фікації. Окрім того, вагоме підвищення активності каталази в листках може знижувати негативний ефект фотореспірації. Отримані результати дозволяють прогнозувати, що за збереження тенденцій змін клімату в Степовому Придніпров'ї умови для виживання видів роду *Tilia* L. будуть ймовірніше сприятливими, ніж негативними.

References

1. Alexeyeva A. A, Lykholat Yu. V., Khromykh N. O., Kovalenko I. M., Boroday E. S. (2016). The impact of pollutants on the antioxidant protection of species of the genus *Tilia* at different developmental stages. Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol. 24(1), 188–192. doi:10.15421/011623
2. Bahuguna R. N., Jagadish K. S. V. (2015). Temperature regulation of plant phenological development. Environmental and Experimental Botany. 111, 83–90.
3. Campa C, Urban L, Mondolot L, Fabre D, Roques S, Lizzi Y, Aarrouf J, Doulebeau S, Breittler J-C, Letrez C, Toniutti L, Bertrand B, La Fisca P. Bidel L.P.R., Etienne H. (2017). Juvenile Coffee Leaves Acclimated to Low Light Are Unable to Cope with a Moderate Light Increase. Front. Plant Sci. 8, 1126.
4. Granda E., Escudero A., Valladares F. (2014). More than just drought: complexity of recruitment patterns in Mediterranean forests. Oecologia. 176, 997–1007.
5. Harfouche A., Meilan R., Altman A. (2014). Molecular and physiological responses to abiotic stresses in forest trees and their relevance to tree improvement. Tree Physiol. 34(11), 1181–1198.
6. Khromykh, N., Lykholat, Y., Shupranova, L., Kabar, A., Didur, O., Lykholat, T., Kulbachko, Y. (2018). Interspecific differences of antioxidant ability of introduced *Chaenomeles* species with respect to adaptation to the steppe zone conditions. Biosystems Diversity. 26(2), 132–138. doi:10.15421/011821

7. Lee B.-R., Kim K.-Y., Jung W.-J., Avice J.-C., Ourry A., Kim T.-H. (2007). Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water-deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.). *J. Exp. Bot.* 58(6), 1271–1279.
8. Lykholat Y., Alekseeva A., Khromykh N., Ivan'ko I., Kharytonov M., Kovalenko I. (2016). Assessment and prediction of vitality and metabolic activity of *Tilia platyphyllos* in arid steppe climate of Ukraine. *Agriculture & Forestry.* 62(3), 57–64.
9. Lykholat Y., Khromykh N., Ivanko I., Kovalenko I., Shupranova L., Kharytonov M. (2016). Metabolic responses of steppe forest trees to altitude-associated local environmental changes. *Agriculture & Forestry.* 62(2), 163–171.
10. Mhamdi A., Queval G., Chaouch S., Vanderauwera S., Van Breusegem F., Noctor G. (2010). Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic model. *Environ. Exp. Bot.* 61(15), 4197–4220.
11. Mittler R. (2002). Oxidative Stress, Antioxidants, and Stress Tolerance. *Trends Sci.* 7, 405–409.
12. Opanasenko V. F., Lykholat Yu. V., Rudnytska Ye. M., Hovorun I. O. (1998). Bahatorichni kvitkovo-dekoratyvni roslyny dlia ozelenennia promyslovoho mista [Perennial flower and ornamental plants for planting the industrial city]. *Industrial botany: the state and prospects of development. Materials of the III International sciences conf.* Donetsk: Agency «Multimpres», 277–281.
13. Savosko, V., Lykholat, Yu., Domshyna, K., Lykholat, T. (2018). Ekologichna ta heolohichna zumovlenist poshyrennia derev i chaharnykh na devastovanykh zemliakh Kryvorizhzhia [Ecological and geological determination of trees and shrubs' dispersal on the devastated lands at Kryvorizhzhia]. *Journal of Geology, Geography and Geoecology*, 27 (1), 116-130. doi:10.15421/111837.
14. Vinnychenko O. M., Bil'chuk V. S., Lykholat Yu. V., Rossyhina-Galycha H. S., Shupranova L. V. (2014). Speczprakytum z fiziologiyi ta biohimiyi Roslyn [Special practice on physiology and biochemistry of plants]. *Dnipropetrovs'k: FOP Serednyak T. K.*, 224.
15. Zaitseva I. O., Dolhova L. H. (2010). Fiziologho-biokhimichni osnovy introduksii derevnykh roslyn u Stepovomu Prydniprovi [Physiological and biochemical bases of introduction of tree plants in the Steppe Dnieper]: monograph. D: Dnipropetrovsk nation. univ., 388.

Yu. V. Lykholat, N. O. Khromykh, A. A. Alexeyeva, R. Ye. Yefanov, I.P. Grigoryuk (2019). *Metabolic processes in the leaves of the genus tilia l. Plants as a marker of adaptation to climatic conditions of steppe dneiper.*

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 10(1): 10(1): 11-16.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/12606>

Abstract. The high sensitivity of metabolic processes in the leaves of genus *Tilia* different species to the changing climatic conditions of the Steppe Dnieper was established. In *T. platyphyllos* and *T. tomentosa*, the catalase activity was higher in the light-adapted leaves compared to the shaded ones. In the shaded leaves of *T. cordata* and *T. amurensis*, catalase activity significantly exceeded the levels for the lighted leaves. Activity of benzidine peroxidase and guaiacol peroxidase was lower in the sun-adapted leaves of most species. However, in the intense illumination, activation of guaiacol peroxidase was observed in the leaves of *T. platyphyllos*, and in leaves of *T. begoniifolia* — activation of benzidine peroxidase. The results obtained suggest that, while maintaining trends in climate change, the environmental conditions of *Tilia* L. species in the steppe zone will be more favorable than negative.

Keywords: species of limes, antioxidant system, light, adaptation.