

УДК 574.21: 577.112.388.2+504.064.36

В.І. Парпан, М.М. Миленка

ВМІСТ ВІЛЬНОГО ПРОЛІНУ У ЛИСТКАХ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН ЯК ІНДИКАЦІЙНА ОЗНАКА ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ УРБАНІЗОВАНИХ ТЕРИТОРІЙ

Парпан В.І., Миленка М.М. Содержание свободного пролина в листьях древесных растений как биоиндикационный признак экологического состояния урбанизированных территорий // Науч. зап. Гос. природоведч. музея. – Львов, 2009. – Вып. 25. – С. – 155-160.

Исследовано влияние факторов урбанизированной среды на процессы накопления пролина в ассимиляционных органах *Salix caprea* L. и *Tilia cordata* Mill. в условиях Бурштынской урбоэкосистемы. Установлено наличие тесных корреляционно-регрессивных связей между концентрацией стресс-протекторной аминокислоты в листьях *Tilia cordata* и аккумуляцией тяжелых металлов опадом. У *Salix caprea* такая связь не обнаружена. Содержание свободного пролина в листьях древесных растений рекомендуется использовать в качестве биоиндикационного признака для оценки экологического состояния урбанизированных территорий.

Parpan V.I., Mylen'ka M.M. Contents of free proline of arboreal plants as indication sign of ecological state urbanized territories // Proc. of the State Nat. Hist. Museum. – Lviv, 2009. – 25. – P. – 155-160.

An influence of heavy metals on the processes of accumulation of free proline in the assimilatory organs of *Salix caprea* L. and *Tilia cordata* Mill. in the conditions of Burshtyn urboecosystem has been investigated. The presence of close correlative regressive dependences is set between the change of concentrations of stress-protected amino acid in the leaves of *Tilia cordata* and heavy metals accumulation in shedded leaves was determined. In *Salix caprea* marked association was not discovered. Proline contents in the leaves of arboreal plants is recommended to use as a bioindication criteria for the estimation of the territories ecological state.

Важливе значення при адаптації рослин до дії стресових чинників має зміна кількості вільних амінокислот унаслідок їх прямого зв'язку з метаболізмом білків [1, 3, 5-7, 20-22]. Однією з універсальних стрес-протекторних сполук вищих рослин є амінокислота пролін, яка за несприятливих екологічних умов спричинює поліфункціональний біологічний ефект, що виявляється не лише в осморегуляторній, але й в антиоксидантній, енергетичній та інших функціях, які забезпечують підтримку клітинного гомеостазу та його перехід у новий адаптивний стан [2, 9, 21-27].

В умовах зростаючого антропогенного пресингу, актуальності набуває вивчення ролі проліну у формуванні резистентності рослин до дії урботехногенних поллютантів, зокрема важких металів (ВМ). Такого роду дослідження є фрагментарними [5, 6, 9], а більша увага дослідників зосереджена на вивченні протекторної функції проліну відносно водного та сольового стресів [9, 21-27].

Метою роботи було з'ясувати особливості акумуляції вільного проліну асиміляційними органами деревних рослин за дії техногенних стресорів, відмінних за характером та інтенсивністю, та визначити перспективність використання цього показника для біоіндикаційних цілей в умовах Бурштинської урбоекосистеми.

Матеріал і методика досліджень

Дослідження проводили в межах Бурштинської урбоєкосистеми, яка знаходиться в Галицькому районі Івано-Франківської області, на віддалі 6 км у південно-східному напрямку від одного із найбільших підприємств паливно-енергетичного комплексу України – Бурштинської теплоелектростанції (БуТЕС). Її територія, за даними попередніх досліджень [18, 19] та проведених моделюючих розрахунків [13], зазнає систематичного екотрансформуючого впливу від діяльності підприємства.

Об'єктом дослідження слугували листки та листовий опад деревних рослин *Salix caprea* L. та *Tilia cordata* Mill. із різнофункціональних зон Бурштина: зони комплексного озеленення, селітебної зони індивідуальної та капітальної забудови, аграрної зони, придорожніх ділянок, підфакельної зони БуТЕС у межах її промислової площадки (ПП). Місцевим фоном слугувала територія поблизу м. Рогатина [18]. В якості біоіндикаторів використані види, які відзначаються високою репрезентативністю в місті та, відповідно до літературних даних [1, 16] і результатів досліджень [14], належать до різних категорій стійкості щодо урботехногенних поллютантів.

Проби рослинного матеріалу відбирали відповідно до діючих методик [11, 12]. В опаді визначали вміст ВМ, що присутні у викидах БуТЕС та належать до категорії урбогенних поллютантів: Pb, Cd, Fe, Ni, Cu, Zn. Визначення концентрацій ВМ здійснювали атомно-абсорбційним методом у сертифікованій лабораторії. За результатами мікроелементного аналізу обчислювали показники аномальності металів (K_a) для кожного виду, як відношення концентрації мікроелемента у рослинному матеріалі із досліджуваної зони до відповідного фонового показника [17].

Вміст вільного проліну визначали фотоколориметрично ($\lambda=520$ нм) у свіжозібраних листках при екстракції толуолом з попереднім осадженням сульфосаліциловою кислотою. Реакційну суміш готували відповідно до апробованих методик [15]. Концентрацію вільного проліну у листках деревних рослин-індикаторів розраховували за допомогою калібрувальної кривої, побудованої на основі значень оптичної густини стандартних розчинів.

Отримані результати опрацьовували загальноприйнятими варіаційно-статистичними методами з подальшим кореляційним та регресійним аналізом одержаних даних [10, 26]. Підрахунки та статистичну обробку даних здійснювали з використанням програм Excel 2003 та Statistica 7.0 for Windows.

Результати досліджень

Встановлено зростання вмісту вільного проліну у листках деревних рослин-індикаторів у межах урбоєкосистеми Бурштина порівняно із фоновими значеннями. Відмічено видоспецифічні особливості динаміки цього показника в залежності від характеру функціонального призначення територій (рисунок).

Для *T. cordata*, що характеризується високою чутливістю до дії урбопромислових поллютантів, фонове значення концентрації вільного проліну у листку становить $0,222 \pm 0,002$ мг/г сирої маси. Збільшення концентрації амінокислоти відбувається у міру зростання рівня урботехногенного пресингу. Мінімальна концентрація вільного проліну у листових тканинах відмічена у рослин, які зростають на територіях, зайнятих зеленими насадженнями ($0,491$ мг/г). Це свідчить про мінімальну напругу адаптивного процесу і може бути зумовлено високою сануючою роллю багаторічних

зелених насаджень. Подальше поступове зростання вмісту вільного проліну у листових тканинах деревних рослин-індикаторів відбувається у послідовному ряді: селітебна зона індивідуальної забудови > селітебна зона капітальної забудови > аграрна зона > придорожні ділянки, і досягає максимальних значень на території ПП БуТЕС на рівні $0,868 \pm 0,010$ мг/г. Акумуляція вільного проліну може бути пов'язана з активацією неспецифічних адаптивних механізмів у листових тканинах деревних рослин у відповідь на дію урботехногенних стрес-факторів.

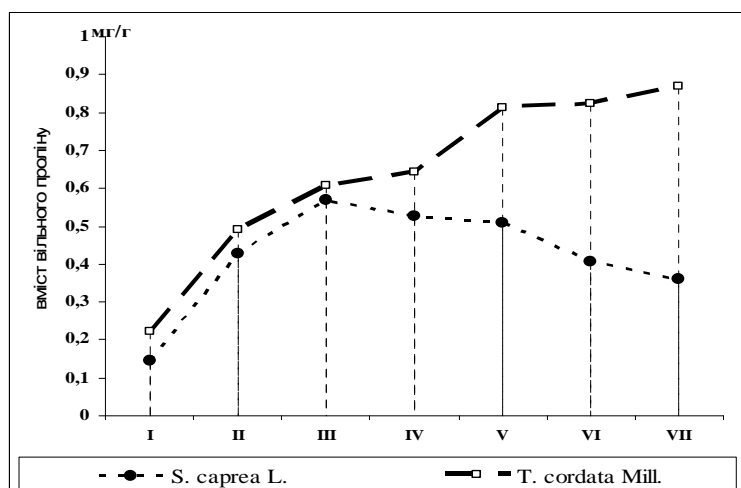


Рис. Динаміка концентрації вільного проліну у листках деревних рослин-індикаторів в залежності від характеру функціонального призначення територій: I – фонові території; II – зелені міські насадження; III – селітебна зона індивідуальної забудови; IV – селітебна зона капітальної забудови; V – аграрна зона; VI – придорожні ділянки; VII – ПП БуТЕС.

У *S. caprea* вміст вільного проліну хоча перевищує фонове значення ($0,156 \pm 0,002$ мг/г) у всіх різнофункціональних зонах, але непропорційний рівню урботехногенного навантаження. Мінімальні концентрації амінокислоти у листових тканинах встановлено для дерев, які зростають на територіях, що піддаються максимальному антропогенному впливу: придорожніх ділянках та ПП БуТЕС (відповідно $0,407 \pm 0,006$ і $0,362 \pm 0,005$ мг/г). В літературі вказується, що зниження вмісту вільних амінокислот за дії несприятливих екологічних факторів може бути обумовлено пригніченням процесів синтезу [9, 23]. Проте, враховуючи значну резистентність *S. caprea* до впливу урботехногенних поллютантів [14], можна зробити припущення, що зниження концентрації проліну має специфічний адаптивний характер. Зокрема, пролін може бути використаний як джерело енергії та відновлювальних еквівалентів, за рахунок чого відбувається зниження його концентрації у рослинному матеріалі [5, 24, 25].

Таким чином, досліджені деревні рослини виявляють видову диференціацію стосовно акумуляції вільного проліну у листових тканинах за дії урботехногенних стресорів різної інтенсивності. Можна припустити, що у рослин, стійких до дії урбопромислових поллютантів, максимальна внутрішньоклітинна концентрація

проліну досягається на першому етапі адаптивного процесу за низьких та середніх концентрацій поллютантів у довкіллі; у чутливих – акумуляція проліну відбувається прямо пропорційно градієнту урботехногенного впливу.

Паралельно проведені лабораторно-аналітичні дослідження мікроелементного складу листового опаду засвідчують значне підвищення концентрацій ВМ у листках деревних рослин різнофункціональних зон урбоєкосистеми порівняно із відповідними фоновими значеннями. Як видно із значень коефіцієнтів аномальності (K_a), концентрація ВМ у рослинному матеріалі значно варіює в залежності від характеру господарського використання окремих міських територій (табл. 1). Близькі значення (K_a) ВМ у аналізованих видів при їх експозиції в аналогічних зонах урбоєкосистеми є свідченням переважання фоліарного типу забруднення рослинності в умовах досліджуваної території.

Таблиця 1

Коефіцієнти аномальності (K_a) ВМ листовому опаді деревних рослин-індикаторів у різнофункціональних зонах Бурштинської урбоєкосистеми

Функціональне призначення досліджуваної території	<i>Salix caprea</i> L.						<i>Tilia cordata</i> Mill					
	Pb	Cu	Cd	Zn	Fe	Ni	Pb	Cu	Cd	Zn	Fe	Ni
Зелені міські насадження	4,41	2,72	3,31	3,52	4,31	3,84	4,71	4,01	3,16	2,05	4,50	5,01
Зона індивідуальної забудови	4,70	3,22	3,87	3,84	4,59	3,97	5,23	4,46	3,36	2,27	4,70	5,06
Зона капітальної забудови	5,16	3,31	4,26	3,70	4,70	3,96	5,41	4,79	3,60	2,20	4,90	5,32
Аграрна зона	5,62	2,80	5,08	3,39	4,11	3,61	5,73	4,33	4,00	1,89	4,40	4,79
Придорожні ділянки	6,98	4,88	5,97	4,53	5,38	4,42	7,25	6,93	5,16	2,64	5,87	5,52
ПП БУТЕС	6,50	5,31	5,56	5,10	6,22	5,50	6,88	7,27	4,76	3,11	6,50	6,20

Для встановлення статистичних залежностей між акумуляцією ВМ опадом та нагромадженням в листках вільного проліну проводили кореляційно-регресійний аналіз. За одержаними результатами можна стверджувати про наявність достовірного позитивний зв'язку між аналізованими параметрами для екологічно лабільного виду *T. cordata* (табл. 2). У *S. caprea* зазначений зв'язок є недостовірним.

Встановлені залежності близькі до лінійних, що обумовлює доцільність застосування показника динаміки вільного проліну у листових тканинах *T. cordata* в якості біоіндикаційної ознаки екологічного стану урбанізованих територій.

Таблиця 2

Рівняння лінійної кореляційно-регресійної залежності ($P < 0,05$) між концентрацією вільного проліну у листі *T. cordata* Mill. та нагромадженням ВМ в умовах Бурштинської урбоєкосистеми

Незалежна змінна (X) – поліютант	Кореляційна залежність	Коефіцієнт детермінації R^2
Вміст вільного проліну (Y)		
Pb	$Y = 0,0229 X + 0,0890$	0,90
Cu	$Y = 0,0192 X + 0,1711$	0,83
Cd	$Y = 0,6507 X + 0,0568$	0,92
Zn	$Y = 0,0139 X + 0,0044$	0,71
Fe	$Y = 0,0012 X + 0,1048$	0,81
Ni	$Y = 0,0217 X + 0,0934$	0,74

Перспективою продовження проведених досліджень є здійснення біоіндикаційної оцінки урбанізованих та техногенно змінених екосистем Прикарпаття із використанням фізіолого-біохімічних показників деревних рослин.

Висновки

За дії антропогенних факторів Бурштинської урбоєкосистеми відбувається акумуляція вільного проліну у тканинах листків *T. cordata* та *S. caprea*.

Динаміка цього показника має виражений видоспецифічний характер та визначається інтенсивністю урботехногенного навантаження. У *S. caprea* максимальна внутрішньоклітинна концентрація проліну досягається при середніх концентраціях у довкіллі поліютантів, зокрема ВМ. У *T. cordata* акумуляція вільного проліну відбувається прямо пропорційно градієнту урботехногенного впливу та знаходиться у тісній кореляційно-регресійній залежності із нагромадженням ВМ в листовому опаді.

Вміст вільного проліну у листках *T. cordata* може слугувати інформативною біоіндикаційною ознакою екологічного стану урбанізованих територій.

1. Бессонова В.П. Морфо-функциональные исследования растений в условиях загрязнения среды тяжелыми металлами: автореф. дисс. на соискание учен. степени д-ра биол. наук: спец. 03.00.16 „Экология”. – Днепропетровск, 1991. – 18 с.
2. Биоиндикация загрязнения наземных экосистем / Под ред. Р. Шуберта. – М.: Мир, 1988. – 350 с.
3. Гнатів П.С. Стрессова адаптивна реакція дерев у техногенному довкіллі // Наук. вісник: до 125-річчя УкрДЛТУ / Зб. наук.-тех. праць. – Львів: УкрДЛТУ. – 2000. – Вип. 10.1. – С. 69-72.
4. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях: Пер. с англ. – М.: Мир, 1989. – 430 с.
5. Кобилецька М., Терек О. Вплив іонів кадмію на вміст фенольних сполук та вільного проліну в рослинах кукурудзи // Вісн. Львів. ун-ту. Серія біол. – 2002. – Вип. 28. – С. 311-316.
6. Коршиков И.И. Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. – Киев: Наук. думка, 1996. – 237 с.
7. Коршиков И.И., Гнатів П.С. Урботехногенне середовище як інтегральний чинник пристосування рослин // Промышленная ботаника. – 2003. – Вип. 3. – С. 78-82.

8. Коршиков І.І., Гнатів П.С. Накопичення важких металів в ґрунті та зольність листків деревних рослин насаджень міста Львова // *Промышленная ботаника*. – 2006. – Вып. 6. – С. 28-34.
9. Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Пролін при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // *Физиология растений*. – 1999. – Т. 46. – С. 321-336.
10. Лакин Г.Ф. Биометрия: Уч. пособие для биол. спец. ВУЗов. – М.: Высш. шк., 1990. – 350 с.
11. Маргайлик Г.И. К методике отбора листьев древесных растений для сравнительных морфолого-анатомических и физиологических исследований // *Ботан. журн.* – 1961. – Т. 50, № 1. – С. 89-90.
12. Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнения окружающей среды металлами. – М.: Гидрометеоиздат, 1981. – 110 с.
13. Миленка М.М. Аеротехногенне забруднення довкілля викидами Бурштинської теплоелектростанції // *Сучасні екологічні проблеми та молодь – IV: Матеріали міжвуз. наук. конф. (Запоріжжя, 25-26 листопада 2008 р.)*. – Запоріжжя, 2008. – ч. V. – С. 5-6.
14. Миленка М.М. Використання деревних видів для діагностики екологічного стану довкілля урбанізованих територій // *Лісівництво і агролісомеліорація*. – Харків: УкрНДЛГА, 2008. – Вип. 114. – С. 111-114.
15. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. Спектрофотометричні методи у практиці фізіології, біохімії та екології рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 200 с.
16. Николаевский В.С. Биологические основы газоустойчивости растений. – Новосибирск: Наука, 1979. – 280 с.
17. Парибок Т.А., Сазыкина Н.А., Тэмп Г.А. и др. Содержание металлов в листьях деревьев в городе // *Ботан. журн.* – 1982. – Т. 67, № 11. – С. 1533-1539.
18. Парпан В.І., Ганжа Д.Д., Шпарик Ю.С., Парпан Т.В. Забруднення техногенними поллютантами лісових екосистем в Івано-Франківській області // *Наук. праці ЛАН України*. – 2004. – Вип. 3. – С. 91-95.
19. Пендерещький О.В. Екологічна оцінка впливу на довкілля крупних енергетичних об'єктів (на прикладі Бурштинської ТЕС) // *Вісн. ХІСП. Екологія, техногенна безпека і соціальний прогрес*. – Харків, 2004. – Вип. 1(6). – С. 62-71.
20. Пересипкіна Т.М., Дубова О.В., Фендюр Л.М. Фізіолого-біохімічні особливості рослин в умовах промислового середовища // *Укр. бот. журн.* – 1997. – Т. 54, № 5. – С. 469-473.
21. Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. – М.: Мир, 1977.
22. Шевякова Н.И. Метаболизм и физиологическая роль пролина при водном и солевом стрессе // *Физиология растений*. – 1983. – Т. 30. – С. 768-783.
23. Dalaune A.J., Verma D.P. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants // *Plant Journ.* – 1993. – Vol. 4. – P. 215-223.
24. Kohl D.H., Shubert K.R., Karter M.B. et al. Proline metabolism in N₂-fixing root nodules: energy transfer and regulation of purine synthesis // *Proc. Nat. Sci. USA.* – 1988. – Vol. 85. – P. 2036-2040.
25. Kusnetsov V.V., Rakitin V.Yu., Borisova N.N. Why does heat shock increase salt resistance in cotton? // *Plant. Physiol. Biochem.* – 1993. – Vol. 31. – P. 181-188/
26. Kusnetsov V.V., Shevyakova N.I. Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity. Proline accumulation and phosphorylation of polypeptides // *Physiol. Plant.* – 1997. – Vol. 100. – P. 320-326.
27. Paleg L., Stevart G.R., Bradbeer J.W. Proline and glycine betaine in fluences protein salvation // *Plant Physiol.* – 1994. – Vol. 75. – P. 974-978.
28. Pearson K.M. On the generalized probable error in multiple normal correlation // *Biometrika.* – 1968. – № 6. – P. 59-68.