

## ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ЛИСТЬЯХ ЧИНАРЫ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЫ

**Мухамедова С.Н.**

Ташкентский педиатрический медицинский институт (Ташкент)

**Абдуллаева М.М.**

Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека (Ташкент)

**Левицкая Ю.В.**

Центр передовых технологий при Министерстве инновационного развития Республики Узбекистан (Ташкент)

### АННОТАЦИЯ

В статье представлены данные о состоянии антиоксидантной системы чинара (*Platanus orientalis*) в период с мая по сентябрь. В листьях чинара оценивалось количество малонового диальдегида и пролина, а также изучалась активность трех основных антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы. Кроме влияния климатических условий оценивалось влияние дополнительного техногенного стрессорного фактора в виде автомагистралей.

**Ключевые слова:** стрессоустойчивость растений, антиоксидантная система, активные формы кислорода, перекисное окисление липидов, ферментативная активность, пролин.

Комплексное исследование состояния городских зеленых насаждений в условиях сложной экологической ситуации, характерной для крупных городов и промышленных центров, позволяет понять механизмы адаптации растений, особенно в условиях постоянно возрастающего загрязнения окружающей среды. Наиболее часто при изучении устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды учитывается активность антиоксидантных ферментов. При негативных воздействиях в клетках растений усиливается образование активных форм кислорода, что в итоге может привести к окислительному стрессу [1].

Изучение естественных механизмов устойчивости растений к разнообразным стрессовым воздействиям позволит решить одну из актуальных задач - сохранение существующих на Земле экосистем, а кроме того создать

благоприятные условия для жизни человека, в том числе и в условиях глобальной урбанизации. Для озеленения городов нашего региона чинара (*Platanus orientalis*) является одной из наиболее подходящих и часто рекомендуемых культур. Это относительно быстрорастущее и долгоживущее растение - в Самаркандской области статус «Государственного памятника природы» присвоен чинаре, чей возраст превышает 600 лет.

Учитывая сказанное выше, целью данной работы явилось изучение сезонное состояния антиоксидантной системы в листьях чинары, произрастающей в условиях ботанического сада Национального университета Узбекистана (Ташкент) и вблизи оживленной магистрали в центральной части города Ташкента, поскольку именно Чинара, или Платан восточный (*Platanus orientalis*) по-праву является символом нашего региона, кроме того это одна из самых древних культур, ее относят к реликтовым растениям.

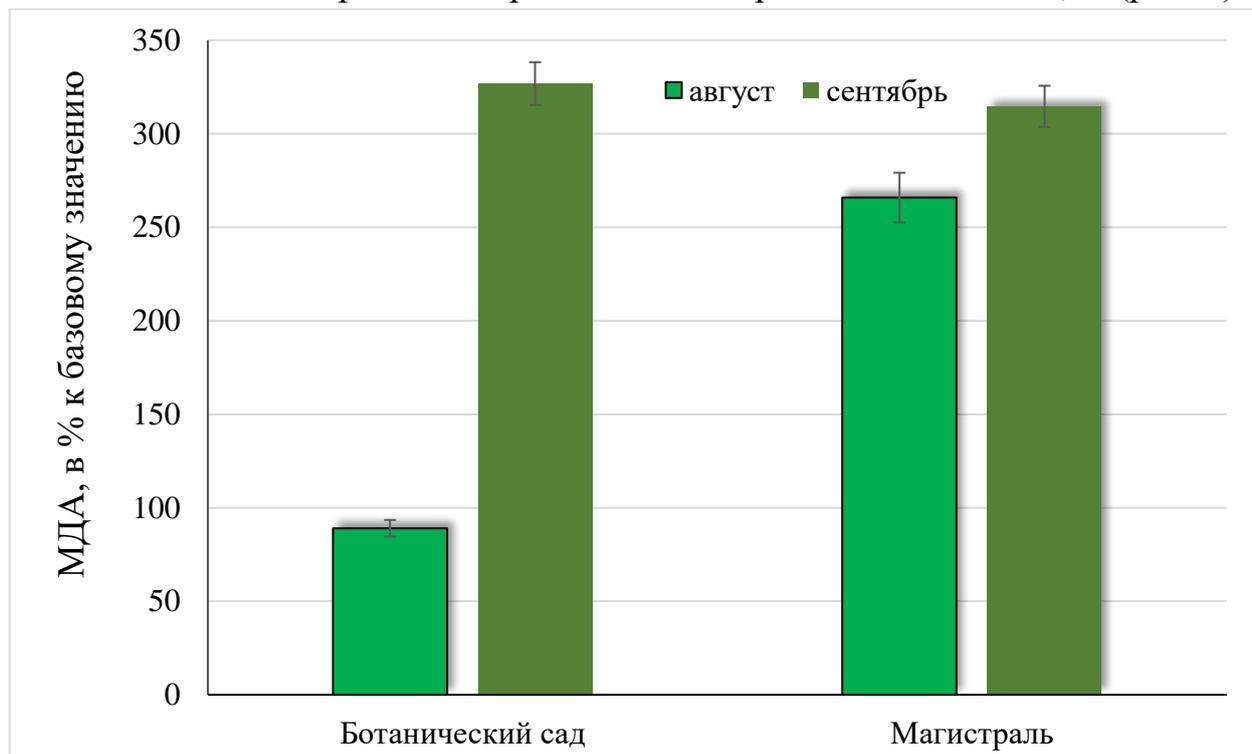
### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В работе использовались листья растений вида Чинара, или Платан восточный (*Platanus orientalis*), произрастающих в районе ботанического сада и зеленых насаждений Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека (группа «Ботанический сад») и листья растений, произрастающих в районе оживленного перекрестка центральной магистрали в районе площади Амира Тимура г. Ташкента (группа магистраль). Листья собирались в утренние часы (7-9 часов утра). Для исследований были использованы деревья приблизительно одного возраста. Для определения количества МДА как конечного продукта ПОЛ была использована методика определения ТБК-реакционных продуктов. Для оценки активности антиоксидантной системы нами были изучены ферментативные активности пероксидазы (по скорости реакции окисления бензидина под действием пероксидазы), каталазы (используя способность пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс) и супероксиддисмутазы (по способности фермента ингибировать аутоокисление низких концентраций адреналина) листьев [2]. Количество свободного пролина определяли по нингидриновой реакции [3]. В работе был использован спектрофотометр Cary Eclipse 60 (США). Статистическую обработку данных производили с использованием программы Excel 2010 (Microsoft, США). В каждом измерении было не менее 5 повторов. Для полученных данных были рассчитаны средние арифметические значения и их стандартные отклонения. Для определения значимости различий между средними значениями использовали t-критерий Стьюдента с уровнем значимости 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки общего окислительного стресса нами использовалось измерение накопления конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА). Нами было обнаружено, что на первых этапах вегетационного периода (апрель-май) его количество минимально. Поэтому в дальнейшем уровень МДА в период апрель-май нами принимался за базовый или «нулевой». Однако с течением времени происходит достаточно резкое увеличение концентрации МДА: в августе количество МДА увеличивается на 89% по сравнению с начальными значениями, а в сентябре этот же показатель составляет уже 326% от значений в апреле/мае. Для деревьев, произрастающих вблизи оживленной магистрали отмечалось еще более значительное увеличение количества МДА в листьях в августе месяце – на 266% от базовых значений, однако в дальнейшем рост МДА несколько замедлялся и в сентябре был увеличен на 315%. То есть разница между количеством МДА в листьях чинар, растущих в условиях ботанического сада, и в условиях магистрали составила всего 11%.

Оценка активности антиоксидантной системы (АОС), рассчитываемая нами как отношение показателей количества МДА в августе и сентябре продемонстрировала, что данный показатель имеет значение меньше 1 в обоих случаях, однако намного ниже в условиях ботанического сада – показатель равен 0,27, в то время как в условиях дополнительного антропогенного стресса активность АОС чинары выше практически в 3 раза и составляет 0,84 (рис. 1).



**Рисунок 1.** Динамика накопления МДА в условиях ботанического сада и автомагистрали в листьях чинары (за 0 приняты показания количества МДА в начале сезона;  $n=20$ ;  $p<0.05$ )

Чрезмерное действие различных абиотических факторов приводит к активации защитных и приспособительных реакций растений, при этом адаптация растений к абиотическим стрессорам сопровождается накоплением свободного пролина в тканях. Увеличение содержания пролина может служить в качестве количественной меры стресса [4].

В начале сезона в условиях ботанического сада в листьях чинары отмечалось в среднем 0,02 мг%/1г сухого вещества (св), к концу сезона количество пролина увеличивалось на 30% (в среднем 0,026 мг%/1гсв) по сравнению с начальными показателями. В то же время в начале сезона в листьях чинары, произрастающей вблизи автомагистрали количество пролина составляло уже 0,085 мг%/1гсв в среднем, что в 4,25 раза больше, чем показатели для ботанического сада. Этот показатель увеличивался и дальше, и к концу сезона уже составлял в среднем 1,022 мг%/1гсв – то есть в 12 раз больше, чем в начале сезона, а по сравнению с показателями того же периода деревьев, растущих в ботаническом саду университета этот показатель был больше практически в 40 раз. Вполне вероятно, что чинару можно использовать в качестве биоиндикатора состояния атмосферного воздуха (таб. 1).

**Таблица 1.**

**Сезонные изменения в содержании пролина в листьях чинары в зависимости от места произрастания ( $n=20$ , \*  $p<0.05$ )**

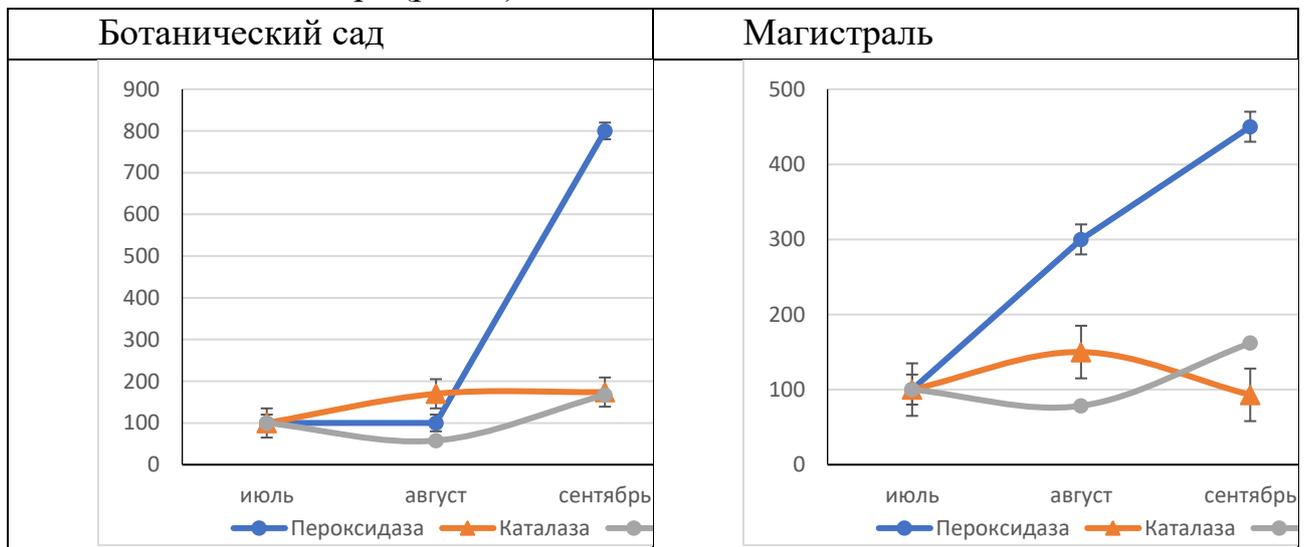
Условия произрастания	Количество пролина (мг%/1гсв)	
	Май	Сентябрь
Ботанический сад	0,02±0,0006	0,026±0,002*
Магистраль	0,085±0,0037	1,022±0,039*

В наших экспериментах было обнаружено, что в начале жаркого сезона для деревьев, произрастающих в условиях университетского ботанического сада отмечалась низкая пероксидазная активность - в период с мая по август ферментативная активность не превышала 0,001 условных единиц. Однако в сентябре месяце отмечается резкое возрастание активности фермента в 8 раз. Вероятно, что с течением времени происходит накопление физиолого-биохимических нарушений, а возрастание активности пероксидазы как терминальной оксидазы - это защитная реакция на стресс-факторы, обеспечивающая сопротивляемость организма и обезвреживание вредных соединений (рис. 2).

Условия урбанизированной среды негативно сказываются на состоянии, росте и развитии растений, а также на их функциональной активности, и одним из наиболее удобных индикаторов (в частности, газодымового стресса) является именно пероксидазная активность. Нами было обнаружено, что в начале сезона активность пероксидазы листьев чинары практически не отличалась от показаний, полученных для растений, растущих в ботаническом саду, однако с ростом среднесуточных температур к началу августа отмечалось увеличение активности пероксидазы в 3 раза. Следует отметить, что к началу завершения сезона (сентябрь месяц) пероксидазная активность в листьях чинары, произрастающей вблизи оживленной автомагистрали, была в 1,8 раза меньше по сравнению с активностью фермента в листьях чинары ботанического сада (рис. 2).

Известно, что изменение активности каталазы связано с биологическими особенностями растений и является в некоторой степени показателем реакции растительного организма на комплекс экологических воздействий.

В наших экспериментах было обнаружено, что в условиях относительно благоприятных условий произрастания (ботанический сад) первый пик активности каталазы чинары смещен ко второй половине августа, а второй пик активности имеет более пролонгированный характер. Общая каталазная активность носит колебательный характер с наименьшими значениями в начале июня и начале сентября (рис. 2).



**Рисунок 2.** Сравнительный анализ сезонной активности ферментов АОС листьев катальпы в зависимости от условий произрастания. (n=20, p<0.03)

Интересно отметить, что в начале сезона практически не наблюдалась разность в активности каталазы как у растений, принятых за контроль (растущих в ботаническом саду университета), так и у растений, растущих вблизи магистрали.

Опираясь на полученные нами данные об активности каталазы листьев растений, произрастающих вблизи оживленной магистрали, можно предположить, что в августе (в период максимально высоких температур) показатели жизнеспособности растения снижаются в среднем на 12%. Динамика каталазной активности отличается в зависимости от условий произрастания – для ботанического сада характерна кривая роста активности по типу гиперболы (резкое увеличение в период с июня по август и незначительный рост с сентября по октябрь), в то время как для магистрали кривая каталазной активности носит характер параболы с максимумом значений в августе и снижением активности в сентябре на 52% по сравнению с начальными значениями (рис. 2).

Особое место в защитной реакции растений в ответ на стрессовые воздействия окружающей среды принадлежит супероксиддисмутазам – ферментам антиоксидантной системы защиты растений, активность которых значительно возрастает в условиях стрессовой нагрузки на растения. Анализ активности СОД в динамике показал, что с течением времени происходят колебания этого показателя с максимальным пиком, приходящимся на сентябрь (на 67%). В августе отмечается снижение показателя в 1,7 раза, а в октябре отмечается спад ферментативной активности на 30% по сравнению с начальными значениями (рис. 2).

При изучении активности СОД листьев чинары, растущих вблизи магистрали, изменения в динамике ферментативной активности практически не наблюдались, однако показатели активности были выше по сравнению с теми же показателями, полученными для растений ботанического сада, степень колебаний значений была несколько меньше, а в конце сезона в октябре месяце активность фермента была на 15% выше, чем в начале сезона.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ: (REFERENCES)**

1. Miura K. and Tada Ya. Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid//Frontiers in plant science. – 2014. –Vol. 5. – P. 1-12.
2. Борисова Г. Г., Малева М. Г., Некрасова Г. Ф., Чукина Н. В. Методы оценки антиоксидантного статуса растений.- Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. – 72 с.
3. Шихалеева Г.Н., Будняк А.К., Шихалеев И.И., Иващенко О.Л. Модифицированная методика определения пролина в растительных объектах// Вестник Харьковского национального университета. Серия: биология.- 2014. - Вып. 21.- № 1112.- С. 168-172.
4. Кириллов А.Ф., Козьмик Р.А., Даскалюк А.П., Кузнецова Н.А., Харчук О.А. Оценка содержания пролина в растениях сои при воздействии засухи и засоления. // Доклады по экологическому почвоведению 2013, №1, вып.18