

**Alexandr P. Statsenko,**  
*ScD (Doctor in Agriculture), professor,*  
*Penza State University;*

**Valeria A. Vikhareva,**  
*ScD (Doctor in Biology), professor,*  
*Penza State Agriculture Academy;*

**Vitalij V. Kostinevich,**  
*ScD, associate professor,*  
*Penza State University;*

**Nataljia V. Kamardina,**  
*ScD,*  
*Penza State University;*

**Rauzat D. Ul'basheva,**  
*ScD (Chemistry),*  
*Kabardino-Balkarian State University n.a. KM. Berbekov;*

**Marina A. Zanina,**  
*ScD (Agriculture), associate professor,*  
*Balashov branch of Saratov National Research State University n.a. NG. Chernyshevskij;*

## Enzymatic testing gas resistance of cultivated plants

**Key words:** *ornamental shrubs, gas resistance, enzyme complexes, the activity of peroxidase isozymes.*

**Annotation:** *the article presents the results of evaluation of gas resistance of various types of ornamental shrubs used for landscaping in urban areas, where the performance indicators used qualitative assessment of the variability of peroxidase enzyme.*

В настоящее время многие виды культурных растений широко используются для озеленения промышленных городов, территория которых сильно загрязнена токсическими выбросами промышленности и автотранспорта. В связи с этим возникла проблема оценки газоустойчивости интродуцентов, высаживаемых на городских территориях, что позволяет повысить выживаемость посадок (3).

В научной литературе накоплены многочисленные сведения об изменчивости ферментных систем под действием химических загрязнителей (4-10). Причем наибольшая лабильность в условиях стресса характерна для окислительно-восстановительного фермента пероксидазы, широко распространенного в вегетативных органах растений различных систематических групп, входящего в состав основных клеточных структур и обладающего разной структурной специфичностью (6). В частности, отмечается влияние химического загрязнения атмосферы на общую активность, количественные и качественные характеристики пероксидазы (5-7).

Зарегистрированы многочисленные факты о наличии глубокой трансформации пероксидазного спектра в вегетативных органах декоративных форм (сосны, бересклета, барбариса и др.) под воздействием промышленного загрязнения атмосферы оксидами серы и азота (4,5).

Однако до настоящего времени остаётся малоизученным комплексное влияние промышленного и транспортного загрязнения атмосферы на качественную изменчивость растительных пероксидаз интродуцентов различных видов, используемых для озеленения городских территорий. Не оценена перспектива использования этого показателя для оценки газоустойчивости различных видов декоративных кустарников.

Настоящее исследование было предпринято с целью выяснения зависимости количественной изменчивости растительного фермента пероксидазы от экологически неблагоприятного воздействия, и использование данных показателей в качестве маркеров устойчивости декоративных кустарников к токсическим выбросам промышленности и автотранспорта.

Исследования проводились в 2011 – 2013 годах на территории Саратовской и Пензенской области Российской Федерации. Объектом исследования служили вегетативные органы растений (листья) 12 видов декоративных кустарников: Рябинник рябинолистный (*Sorbaria sorobifolia* L.), Спирея зверобоелистная (*Spiraea hypericifolia* L.), Чубушник венечный (*Philadelphus coronaries* L.), Ирга канадская (*Amelanchier cfnfdensis* L.), Тамарикс грациозный (*Tamarix gracilis* Willd), Аморфа кустарниковая (*Amorpha fruticosa* L.), Пузыреплодник калинолистный (*Physocarpus opulifolius* L.), Барбарис Тунберга (*Berberis thunbergii* L.), Жимолость татарская (*Lonicera tatarica* L.), Боярышник кроваво-красный (*Cuataegus sanquinea* L.), Снежнаягодник белый (*Symphoricarpos albus* L.). Растительный материал был отобран с растений среднегенеративного возраста, листья срезаны в средней части веток, расположенных в средней части кроны кустарника при температуре воздуха + 22-25 С. Опытные образцы отбирались в промышленном районе города в местах с повышенной проходимостью автотранспорта (более 35 единиц за 2 минуты в 4-х направлениях), а контрольные – в экологически незагрязненной местности.

Для выделения фермента пероксидазы из растительной ткани навеска листьев (2г) измельчалась с помощью скальпеля, затем заливалась семикратным объемом 0,005 М трис-глицинового буфера, содержащего 30% сахарозы, и гомогенизировалась на холоде. Гомогенат в течении часа выдерживался при температуре 4 °С и центрифугировался при скорости 8 тыс. об/минут. Надосадочная жидкость использовалась в качестве препарата пероксидазы. Электрофорез пероксидазы проводили по модифицированной методике Дэвиса и Рейсфильда (8-10) в цилиндрических гелях размером 0,6x7,0 см в 7,5%-ном поли-акриламидном геле с использованием трис – глициновой буферной системы рН = 8,3 с охлаждением. Время проведения электрофореза 2 часа 20 минут. Первые 20 мин. Сила тока на гелевую трубку не превышала 2 мА, затем усиливалась до 4мА.

По окончании электрофореза гели опускались на 30 минут в 0,02%-ный раствор солянокислого бензидина, а затем – в 0,01%ный раствор пероксида водорода до появления голубых полос изопероксидаз. Затем реакционная смесь сливалась, а гели промывались 10%-ным раствором уксусной кислоты.

Для идентификации фермента использовали промышленный препарат пероксидазы хрена.

Для удобства анализа изозимных спектров катодные изопероксидазы по относительной электрофоретической активности (ОЭП) были условно разделены на три зоны: А-зона (ОЭП от 0 до 30), В-зона (ОЭП от 31 до 60) и С-зона (ОЭП от 61 до 100).

Согласно многочисленным литературным данным, количественная и качественная изменчивость фермента пероксидазы является признаком ранней ответной реакции на химическое загрязнение атмосферы и может служить объективным показателем их газоустойчивости (5-6).

Наши исследования показали, что комплексное воздействие промышленных выбросов в сочетании с выхлопными газами автотранспорта приводят к значительным количественным и качественным изменениям ферментативного комплекса пероксидазы в листьях изучаемых видов декоративных кустарников, произрастающих в промышленном районе города с высокой транспортной нагрузкой.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что городское загрязнение атмосферы влечет за собой существенное изменение компонентного состава пероксидазы (рис.1).

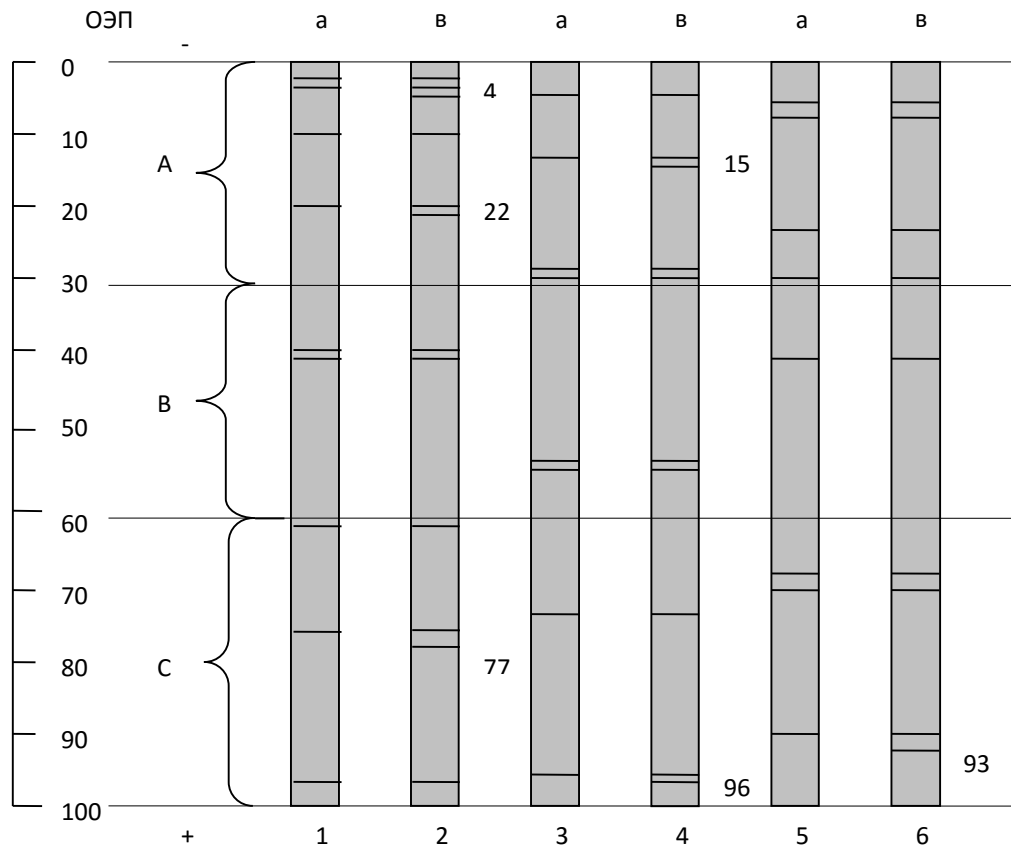


Рис.1 Электрофореграмма изоферментов пероксидазы декоративных кустарников в условиях химического стресса: 1-2- *Amorpha fruticosa* L.; 3-4- *Tamarix gracilis* Willd; 5-6- *Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim: а-контроль; б- опыт.

Анализ электрофореграмм показывает, что в вегетативных органах исследуемых декоративных кустарников, произрастающих в зоне жесткого химического загрязнения, гетерогенность изозимного спектра пероксидазы существенно возрастает, что является свидетельством адаптивной перестройки окислительно-восстановительной системы, связанной с приспособлением растений к жизни в условиях стресса.

Причем наиболее существенной трансформации под действием химического загрязнения атмосферы подверглась пероксидаза Аморфа кустарниковая (*Amorpha fruticosa* L.), что проявилось в появлении в изозимном спектре трех новых компонентов – А4; А22; С77. Это обеспечило высокую газоустойчивость вида. Минимальная изменчивость пероксидазного спектра была характерна для Пузыреплодника калинолистного (*Physocarpus opulifolius* L.), где зафиксировано появление в спектре только одного нового компонента – С93, что свидетельствует о его низкой газоустойчивости.

Для Тамарикс грациозный (*Tamarix gracilis* Willd)) в условиях химического загрязнения атмосферы зарегистрировано появление в изозимном спектре пероксидазы двух-трех новообразований, что позволяет отнести данный вид к группе среднеустойчивых.

Таким образом, характер новообразований в изозимном спектре фермента пероксидазы листьев декоративных кустарников являются объективными биохимическими показателями газоустойчивости растений, произрастающих в условиях промышленного и транспортного загрязнения атмосферы городских территорий.

### **References:**

1. Nicholas V. *Biological basis of gas resistance rasteniy.* Nauka, Novosibirsk, 1979; 276.
2. Savich IM. *Peroxidase - stressful plant proteins: Successes of modern biology*, 1989, T.107, №3; 406-417.
3. Sarsenbayev KN, Mezentseva NI, FA Polimbetova FA. *Effect of sulfur dioxide on the activity and the component composition of free and bound fractions of peroxidase spring wheat seedlings: Physiology and biochemistry of cultural plants*, 1983, T.15, №1; 51-55.
4. Sarsenbayev KN, Polimbetova FA. *Enzymes, role in plant resistance.* Alma-Ata, Science, 1986; 184.
5. Statsenko AP, Vyugovsky AA. *Biochemical tests of contaminated areas in the field of chemical weapons destruction: Almanac of modern science and education*, 2009; 144-146.
6. Statsenko AP. *Vegetable peroxidase - markers of chemical contamination of the environment: Statsenko AP, Tuzhilova LI, Vyugovsky AA: Bulletin of the Orenburg State University*, 2008, №10; 188-191.
7. Shatskaya RM. *Introduction and acclimatization plants*, 1986, №5; 31-36.
8. Davis BJ. *Disc-electrophoresis. Method and application to human series proteins: Ann. New York Acad. Sei.*, 1964/-12, №4; 404-427.
9. Zin EN. *Simple method for determining the relative activities of individual peroxidase isozymes in a tissue extract: Anal. Biochem.*, 1973, №1; 149-154.
10. Reisfeld RA, Lewis UI, Williams DE. *Disc-electrophoresis of basis proteins and peptides in polyacrylamide gel: Nature*, 1962, 195, №4838; 281-283.