

УДК 581.19:633.72

doi: 10.31360/2225-3068-2020-73-149-154

## АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ В ЛИСТЬЯХ ЧАЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ РЯДА ФАКТОРОВ

Платонова Н. Б., Платонов А. А., Белоус О. Г.

*Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки «Федеральный исследовательский центр  
«Субтропический научный центр Российской академии наук»,  
г. Сочи, Россия, e-mail: oksana191962@mail.ru*

Определение активности гваяколпероксидазы в свежесобранной в период активной вегетации 3-листной флешки чая показало, что активность фермента связана с метеорологическими условиями, а именно, количеством осадков ( $r = 0,86$ ). Неблагоприятные засушливые условия сопровождаются появлением окислительного стресса, который выражается в повышении активности гваяколпероксидазы, как неспецифической реакции на стрессовый фактор. Установлено, что динамика активности фермента в 3-листной флешки чая сортоспецифична. Наибольшей активностью гваяколпероксидазы в течение всего периода вегетации отличается сорт 'Сочи' и форма 582 (около 0,56 усл. ед./г·с). Наименьшая активность отмечена у форм 3823 и 2264. Более низкий уровень активности гваяколпероксидазы – отрицательное явление, как для устойчивости самого растения, так и для качества готового чая.

**Ключевые слова:** чай, флешка, сорта, формы, гваяколпероксидаза, стресс, гидротермический фактор, устойчивость.

Одной из важнейших проблем фитофизиологии является изучение механизмов устойчивости растений к действию неблагоприятных факторов окружающей среды [4, 10, 12]. Одним из последствий стрессового воздействия является образование активных форм кислорода (АФК).

В комфортном состоянии клетки содержание АФК поддерживается на низком уровне, благодаря работе специальных антиоксидантных ферментных систем, утилизирующих активные формы кислорода. Количество АФК, не ликвидированное ферментами, накопленное в клетке и вызывающее её повреждение, называют «окислительным стрессом». Окислительный стресс является неспецифической реакцией растений на действие стрессовых факторов [4, 12]. При действии стрессоров содержание АФК в клетках значительно увеличивается, особенно у теплолюбивых растений, к которым относятся все субтропические культуры, например, чай. Ряд авторов отмечает повышение активности пероксидаз, особенно при инактивации некоторых антиоксидантных ферментов, таких как каталаза [2, 6, 8, 14, 15]. Не случайно, в последнее время особый интерес направлен на изучение ферментов антиоксидантной системы, в частности, пероксидаз – ферментов класса оксидоредуктаз, катализирующих с помощью перекиси водорода окисление различных веществ. Уровень активности пероксидазы в органах растений используют для характеристики их функционального состояния в ответ на действие экстремальных факторов среды [7, 11, 16]. Еще один очень важный для наших исследований момент связан с тем, что субстратами пероксидаз являются фенольные соединения, аскорбиновая кислота, ряд ароматических кислот и т. д. [13]. Все эти соединения являются значимыми компонентами антиоксидантной системы чая и обуславливают его пищевую ценность [1, 3, 9]. Но основным субстратом являются фенолы, которые под действием фермента окисляются до полифенолов и хинонов, которые сами по себе являются сильными окислителями. Хиноны склонны к полимеризации, в результате чего образуются тёмноокрашенные соединения. Данный процесс особенно активно идёт на этапе ферментативного окисления сырья (3-листной флеш) при производстве черного чая.

**Объекты и методы.** Объекты исследования – 3-листные побеги (флеш) растений *Camellia sinensis* (L.) Kuntze сорта ‘Сочи’ и форм 3823, 582, 855 и 2264, выращиваемых на опытном коллекционно-маточном участке института в пос. Уч-Дере (Лазаревский р-он, г. Сочи). Контроль – сорт ‘Колхида’.

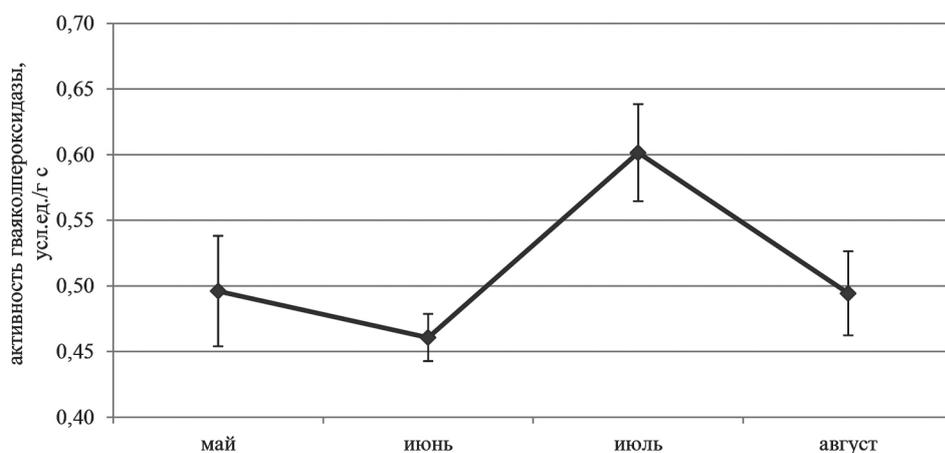
Полевые отборы выполнены на плантации коллекционно-маточных насаждений чая (1981 г. посадки) в п. Уч-Дере. Лабораторные исследования проводили в лаборатории физиологии и биохимии растений Всероссийского научно-исследовательского института цветоводства и субтропических культур.

Активность гваяколпероксидазы (ГПО) определяли спектрофотометрическим методом по Ермакову с учётом скорости утилизации

пероксида водорода в реакционной смеси, в которую вносится растительный материал. Об интенсивности утилизации пероксида водорода судили по скорости снижения экстинкции при длине волны 440 нм против фосфатного буфера (рН 6,7) [5].

На рисунках и в таблицах представлены средние арифметические значения измеряемых величин и их среднеквадратичные отклонения. Корреляционную зависимость между выборками оценивали путём расчёта ранговой корреляции Спирмена. Для проверки значимости корреляции и оценки статистических величин проведён анализ с применением пакета ANOVA в STATGRAPHICS Centurion XV (версия 15.1.02, StatPoint Technologies) и MS Excel 2007. Статистический анализ включал одномерный дисперсионный анализ (метод сравнения средних с использованием дисперсионного анализа, t-критерий). Статистически значимой принята значимость различия между средними значениями при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** При определении активности гваяколпероксидазы в свежесобранной 3-листной флеша чая в период активной вегетации нами отмечено наличие спадов и пиков в активности фермента, связанных с метеорологическими условиями каждого месяца (рис. 1). В начале вегетации (май) активность фермента была невысокой – в пределах от 0,363 до 0,607 усл. ед./г·с.



**Рис. 1.** Изменение активности ГПО в свежесобранной 3-листной флеша

В июне наблюдается снижение активности, что, однако, не является существенным и обусловлено биологическими особенностями культуры чая. После майского всплеска ростовых процессов у растений чая наблюдается период покоя, в котором процессы метаболизма несколько

замедляются. Как правило, в дальнейшем, в нашей зоне наблюдается стрессовый по гидротермическим условиям период, что отражается на функциональном состоянии растений, в частности, можно отметить острый водный дефицит. Это приводит к проявлению окислительного стресса, который выражается в повышении активности ГПО, как неспецифической реакции на стрессовый фактор.

Нами проведён корреляционный анализ, показавший наличие прямой зависимости между повышением активности фермента и гидротермическими факторами. При этом, наиболее существенная корреляция выявлена между активностью ГПО в свежесобранной 3-листной флеша чая и количеством осадков ( $r = 0,86$ ).

Однако динамика активности фермента в 3-листной флеша сортов-специфична (табл. 1).

Таблица 1

**Сортовые особенности  
динамики ГПО в 3-х листной флеша чая, усл. ед./г·с**

Вариант	Май	Июнь	Июль	Август	НСР	V, %
‘Колхида’	0,48 ±0,01	0,56 ±0,02	0,54 ±0,15	0,48 ±0,15	нс	8
‘Сочи’	0,61 ±0,09	0,43 ±0,14	0,65 ±0,15	0,55 ±0,10	нс	17
ф. 3823	0,56 ±0,09	0,43 ±0,14	0,70 ±0,09	0,54 ±0,11	нс	20
ф. 582	0,36 ±0,02	0,26 ±0,12	0,65 ±0,14	0,51 ±0,12	0,45	39
ф. 855	0,55 ±0,08	0,57 ±0,10	0,57 ±0,19	0,46 ±0,12	нс	10
ф. 2264	0,42 ±0,09	0,52 ±0,07	0,50 ±0,14	0,43 ±0,11	0,46	11

Наибольшей активностью гваяколпероксидазы в течение всего периода вегетации отличается сорт ‘Сочи’ и форма 582 (около 0,56 усл. ед./г·с). Наименьшая активность отмечена у форм 3823 и 2264, что свидетельствует о низкой интенсивности окислительно-восстановительных реакций в стрессовых ситуациях, при действии изменяющихся факторов окружающей среды на растения. Флеша чая используются для приготовления напитка, пищевую ценность которого составляют вещества, образующиеся и в процессе фотосинтетических реакций, и в процессе переработки сырья, основой которых являются окислительно-восстановительные ферментные реакции. Учитывая этот факт, более низкий уровень активности гваяколпероксидазы – отрицательное явление, как для устойчивости самого растения, так и для качества готового чая.

**Заключение.** Таким образом, нами определено изменение активности ГПО в свежесобранной 3-листной флешки, отмечено наличие спадов и пиков в активности фермента, связанных с метеорологическими условиями. Показано существование тесной корреляции между повышением активности фермента и количеством осадков. Динамика активности ГПО в 3-листной флешки определяется генотипическими особенностями сорта.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края в рамках научного проекта № 19-44-235002*

#### Библиографический список

1. Белоус О.Г., Платонова Н.Б. Динамика накопления антиоксидантов в чае (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) в условиях субтропиков России // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты): матер. VIII Международная научно-практическая конференция, 1-5 октября 2018 года, Ялта. – Симферополь: ИТ «Ариал», 2018. – С. 26-27. – ISBN 978-5-906877-23-9.
2. Белоус О.Г., Платонова Н.Б. Изменение ферментативной активности растений чая под влиянием стресс-факторов влажных субтропиков России // Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды: матер. Годичного собрания Общества физиологов растений России: мат-лы Всерос. науч. конф. с междунар. участием и школы молодых учёных. В 2-х частях. – Иркутск, 2018. – С. 127-129. – doi: 10.31255/978-5-94797-319-8-127-129.
3. Белоус О.Г., Платонова Н.Б. Роль антиоксидантов в формировании устойчивости растений чая // Физиология растений – основа создания растений будущего: тезисы докладов IX Съезда общества физиологов растений России, Казань, 19-21 сентября 2019 г. – Казань: Издательство Казанского университета, 2019. – С. 65. – doi: 10.26907/978-5-00130-204-9-2019-65.
4. Белоус О.Г., Платонова Н.Б. Механизмы устойчивости растений чая к стрессорам зимнего периода // Естественные и технические науки. – 2019. – № 10. – С. 41-44. – doi: 10.25633/ETN.2019.10.19.
5. Ермаков А.И., Арасимович В.В. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
6. Платонова Н.Б., Белоус О.Г. Динамика активности фермента пероксидазы как элемента антиоксидантной защиты чая (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2019. – Вып. 68. – С. 197-201. – doi: 10.31360/2225-3068-2019-68-197-201.
7. Рогожин В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 240 с. – ISBN 5-901065-80-8.
8. Сарсенбаев К.Н., Полимбетова Ф.А. Роль ферментов в устойчивости растений. – АН КазССР, Гл. ботан. сад. – Алма-Ата: Наука, 1986. – 180 с.

9. Belous O., Platonova N. Content of antioxidants in tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) grown in the subtropics of Russia // Book of Abstracts of the 13th International Scientific Conference «Biotechnology and Quality of Raw Materials and Foodstuffs». – Nitra, Slovak Republic, 2018. – P. 24.
10. Kapchina-Toteva V., Slavov S., Batchvarova R., Krantev A., Stefanov D., Uzunova A. Stress markers in chlorsulphuron tolerant transgenic tobacco plants // Bulgarian Journal of Plant Physiology. – 2004. – Vol. 30. – № 1-2. – P. 89-103. – ISSN 1310-4586.
11. Kareska S. Factors affecting hydrogen peroxidase activity // ESSAI. – 2009 – Vol. 7. – № 27. – P. 82-85. – doi: 10.13140/RG.2.1.1530.0648.
12. MacFarlena G.R. Leaf biochemical parameters in *Avicennia marina* (Forsk) Vierh as potential biomarkers of heavy metal stress in estuarine ecosystems // Mar. Pollut. Bull. – 2002. – Vol. 44. – № 3. – P. 244-256. – doi: 10.1016/s0025-326x(01)00255-7%2210.1016/s0025-326x(01)00255-7.
13. Muftugil N. The peroxidase enzyme activity of some vegetables and its resistance to heat // J. Sci. Food Agric. – 1985. – Vol. 36. – P. 877-880. – ISSN 0022-5142
14. Nashikkar V.J., Chakrabarti T. Catalase and peroxidase activity in plants – an indicator of heavy metal toxicity // Indian J. Exp. Biol. – 1994. – Vol. 32. – № 7. – P. 520-521. – ISSN 0019-5189.
15. Smith H.H., Hamill D.E., Weaver E.A., Thompson K.H. Multiple molecular forms of peroxidases and esterase's among *Nicotiana* species and amphiploids // Journal of Heredity. – 1970. – Vol. 61. – № 5. – P. 203-212. – doi: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a108085.
16. Thongsook T., Barrett D.M. Heat inactivation and reactivation of broccoli peroxidase // J. Agric. Food Chem. – 2005. – Vol. 53. – P. 3215-3222. – doi: 10.1021/jf0481610%22jf%20

#### **PEROXIDASE ACTIVITY IN TEA LEAVES UNDER THE INFLUENCE OF SOME FACTORS**

**Platonova N. B., Platonov A. A., Belous O. G.**

*Federal Research Centre  
the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences,  
Sochi, Russia, e-mail: oksana191962@mail.ru*

Guaiacol peroxidase activity was determined in freshly harvested 3-leaf tea flushes during the active vegetation period. It is shown that enzyme activity is associated with meteorological conditions, namely, the amount of precipitation ( $r = 0.86$ ). Adverse dry conditions are accompanied by the appearance of oxidative stress, which is expressed in an increased activity of guaiacol peroxidase, as a non-specific reaction to a stress factor. It was found that the dynamics of enzyme activity in 3-leaf tea flushes is specific for each cultivar. The highest guaiacol peroxidase activity during the entire vegetation period is characterized by cultivar 'Sochi' and form 582 (about 0.56 c.u./g s). The lowest activity was observed in forms 3823 and 2264. A lower level of guaiacol peroxidase activity is a negative phenomenon, both for the resistance of the plant itself and for the quality of ready-to-drink tea.

**Key words:** tea, flush, cultivar, forms, guaiacol peroxidase, stress, hydrothermal factor, resistance.