

УДК: 581.199:581:141:633.16

## ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ ПРИ ПРОРОЩУВАННІ НАСІННЯ ЯЧМЕНЮ НА РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ СОЛЕЙ КОБАЛЬТУ І СВИНЦЮ

М.М. Біланич, В.І. Ніколайчук

*Дослідження активності каталази при пророщуванні насіння ячменю на різних концентраціях солей кобальту і свинцю.* – М.М. Біланич, В.І. Ніколайчук. – Досліджували вплив солей свинцю і кобальту на активність каталази у проростаючому насінні ячменю. Виявили, що здебільшого активність ферменту знижувалась за впливу високої концентрації (1%). Зміни активності каталази за впливу нижчих концентрацій (0,0001% і 0,01), крім дослідів з пророщуванням насіння сорту Циклон на різних концентраціях нітрату свинцю, недостовірні.  $Pb(NO_3)_2$  мав більший вплив на активність ферменту, ніж  $CoSO_4$ .

**Ключові слова:** свинець, каталаза, перекис водню, нітрат свинцю, сульфат кобальту.

**Адреса:** Ужгородський національний університет, кафедра генетики, фізіології рослин і мікробіології, вул. А. Волюшина 32, м. Ужгород, 88000, Україна, e-mail: [bio@univ.uzhorod.ua](mailto:bio@univ.uzhorod.ua)

*Study of activity of catalase at sprouting the seed of barley on miscellaneous salt contents of cobalt and lead.* – M. Bilanych, V. Nikolajchuk. – Investigated influencing of salts of lead and cobalt on activity of catalase in the sprouting seed of barley. It was found out, that mostly activity of an enzyme was reduced at influencing high concentration (1%). The variations of activity of catalase at influencing low concentrations (0,0001 % and 0,01) except for expertise with sprouting of seed of the sort Cyclone on miscellaneous concentrations of lead nitrate, are non-credible.  $Pb(NO_3)_2$  had the greater influencing on activity of an enzyme, than  $CoSO_4$ .

**Key words:** lead, catalase, hydrogen dioxide, lead nitrate, sulphate of cobalt.

**Address:** Uzhhorod National University, Department of genetics, physiology and microbiology, A. Voloshina str., 32, Uzhhorod, 88000, Ukraine, e-mail: [bio@univ.uzhorod.ua](mailto:bio@univ.uzhorod.ua)

Проблема негативного впливу важких металів на фізіологічні процеси в рослин вже не нова, але вивчена ще недостатньо. Зокрема, мало вивчені впливи деяких важких металів на фізіологічні процеси, які відбуваються на початкових етапах росту рослин. Відомо, що надходження свинцю у рослини призводить до оксидативного стресу й утворення активних форм кисню, наприклад, перекису водню [7]. Оксидативний стрес є одним із типів пошкоджень, спричинених важкими металами. Під час цього стресу, зокрема, утворюється супероксид аніону, який надалі веде до продукування гідроксильних радикалів та перекису водню. Пероксид водню є сигналом для активації захисних систем, активатором експресії генів і активатором процесів, що призводить до стійкості рослин [9]. Одним із ферментів таких захисних систем є каталаза.

Каталаза широко розповсюджена в організмі людини та тварин, в усіх рослинах та мікроорганізмах, за винятком облігатних анаеробів. Сутність каталітичної дії каталази полягає у розкладанні перекиси водню з виділенням молекулярного кисню.

Функцією ферменту є запобігання накопичення перекису водню, який утворюється під час дисмутації супероксидного аніону та при аеробному окисленні відновлених флавопротейдів [3]. При проростанні насіння в ньому відбувається мобілізація жирів. У зв'язку з цим у тканинах виявляються гліоксисоми, в яких проходить окислення жирних кислот, що супроводжується виділенням перекису водню, який розщеплюється каталазою. [1].

Крім того, ця оксидоредуктаза, через свою низьку специфічність до субстрату-відновника бере участь у розщепленні нижчих спиртів. Каталаза характеризується високою питомою каталітичною активністю, майже не потребує енергії активації. Відомо, що оксидоредуктази (каталаза, пероксидаза) можуть протидіяти дії важких металів [4]. Також каталаза та інші подібні їй ферменти можуть моделювати гомеостаз перекису водню і, відповідно, його сигнальну здатність [7].

Слід підкреслити, що мінеральні елементи можуть також інгібувати активність ферментів, які захищають організм від накопичення  $H_2O_2$  [2]. Дія іонів металів на ферментативний апарат може реалізуватись шляхом прямої їх участі у ко-

нтролі ферментативної активності і опосередковано – через зміну загального складу іонів у клітині, властивостей цитоплазми і структури мембран, інтенсивності і напрямку визначених метаболічних процесів, а як наслідок, зміни рівня тих чи інших метаболітів [8].

Мета роботи – визначити зміни активності каталази у проростаючому насінні і проростках ячменю (*Hordeum vulgare* L.) на 1-й і 3-й дні проростання, за впливу низьких і високих концентрацій солей свинцю і кобальту.

### Матеріали та методи досліджень

Насіння різних сортів ячменю (Циклон, Оболонь) пророщували на фільтрувальному папері, змоченому розчинами різних концентрацій (0,0001%; 0,01%; 1%) сульфату кобальту і нітрату свинцю при температурі 20 °С. Активність каталази визначали у насінні при пророщуванні його через одну добу і через 3 доби після закладки дослі-

ду. Ферментативну активність визначали газометричним методом [6].

Дані опрацьовували статистично з визначенням середнього арифметичного ( $\bar{X}$ ), стандартного відхилення ( $S_x$ ), похибки середнього арифметичного ( $\rho$ ) і дисперсії ( $S_x^2$ ). Достовірність перевіряли за критерієм Стюдента ( $t_s$ ) [5].

### Результати досліджень та їх обговорення

Досліджуючи дію різних концентрацій нітрату свинцю на активність каталази в проростаючому насінні ячменю сорту Циклон через одну добу після висіву, виявили пониження її у варіантах з 0,0001% і 1% розчинами. При пророщуванні насіння на 0,01% розчині  $Pb(NO_3)_2$  достовірних змін не реєстрували, але помітне незначне підвищення виділення кисню. Активність каталази у триденних проростках найнижчою виявилась у варіанті з 1% розчином нітрату свинцю. 0,01% розчин також пригнічував дію каталази (табл.1).

Таблиця 1. Активність каталази в насінні ячменю сорту Циклон під впливом нітрату свинцю ( $cm^3 O_2/hv$ )

Концентрація, %	День проростання 1				День проростання 3			
	X	$S_x$	$\rho$	$S_x^2$	X	$S_x$	$\rho$	$S_x^2$
контроль	2,656	0,250	0,096	0,046	3,784	0,121	0,054	0,014
0,0001	1,700*	0,119	0,0535	0,014	3,920	0,207	0,093	0,043
0,01	2,996	0,514	0,230	0,265	3,328*	0,102	0,057	0,0165
1	1,016*	0,0198	0,022	0,003	2,092*	0,304	0,136	0,303

Примітка: \* - достовірна різниця щодо контролю  $p < 0,05$ .

Достовірного впливу різних концентрацій сульфату кобальту на активність каталази на 1 день проростання насіння сорту Оболонь не виявили. У триденних проростках активність каталази змен-

шувалась у варіанті з 1% концентрацією цієї солі. Менші концентрації, які ми досліджували, не спричинили вагомих відхилень активності каталази від контролю (табл. 2).

Таблиця 2. Активність каталази в насінні ячменю сорту Оболонь під впливом сульфату кобальту ( $cm^3 O_2/hv$ )

Концентрація, %	День проростання 1				День проростання 3			
	X	$S_x$	$\rho$	$S_x^2$	X	$S_x$	$\rho$	$S_x^2$
контроль	1,760	0,386	0,172	0,023	3,344	0,074	0,033	0,005
0,0001	1,648	0,253	0,113	0,060	3,496	0,071	0,031	0,005
0,01	2,100	0,151	0,067	0,023	3,336	0,118	0,053	0,014
1	1,416	0,201	0,089	0,040	1,842*	0,232	0,103	0,054

Примітка: \* - достовірна різниця щодо контролю  $p < 0,05$ .

Активність каталази в проростаючому насінні сорту Оболонь під впливом нітрату свинцю через добу від початку експерименту достовірно не змінювалась, хоча невеликі відхилення від контролю спостерігались у всіх варіантах. Триденні пророс-

тки характеризувались подібною ситуацією. Спостерігалась тенденція до зниження активності ферменту у варіанті з 1% розчином  $Pb(NO_3)_2$  (табл.3).

Таблиця 3. Активність каталази в насінні ячменю сорту Оболонь під впливом нітрату свинцю ( $cm^3 O_2/hv$ )

Концентрація, %	День проростання 1				День проростання 3			
	X	S <sub>x</sub>	p	S <sub>x</sub> <sup>2</sup>	X	S <sub>x</sub>	p	S <sub>x</sub> <sup>2</sup>
контроль	1,540	0,189	0,084	0,035	2,848	0,213	0,095	0,046
0,0001	1,864	0,256	0,114	0,065	3,230	0,054	0,024	0,003
0,01	1,612	0,213	0,095	0,045	3,292	0,055	0,024	0,003
1	1,092	0,046	0,021	0,021	2,160	0,350	0,156	0,121

Дія сульфату кобальту на активність каталази достовірно проявилася лише на 1 день проростання насіння у варіанті з 1 % концентрацією цієї солі. Тут спостерігалось пригнічення активності фе-

рменту. У триденних проростках значних змін активності не виявили, зазначимо лише тенденцію до її зниження під впливом 1 % концентрації CoSO<sub>4</sub>. (табл.4).

Таблиця 4. Активність каталази в насінні ячменю сорту Циклон під впливом сульфату кобальту (у см<sup>3</sup> O<sub>2</sub>/хв)

Концентрація, %	День проростання 1				День проростання 3			
	X	S <sub>x</sub>	p	S <sub>x</sub> <sup>2</sup>	X	S <sub>x</sub>	p	S <sub>x</sub> <sup>2</sup>
контроль	2,562	0,141	0,063	0,019	3,340	0,300	0,134	0,090
0,0001	2,324	0,355	0,159	0,126	3,336	0,169	0,076	0,029
0,01	2,472	0,242	0,108	0,059	3,328	0,092	0,134	0,009
1	1,184*	0,196	0,087	0,038	2,716	0,277	0,124	0,077

Примітка: \* - достовірна різниця щодо контролю p<0,01.

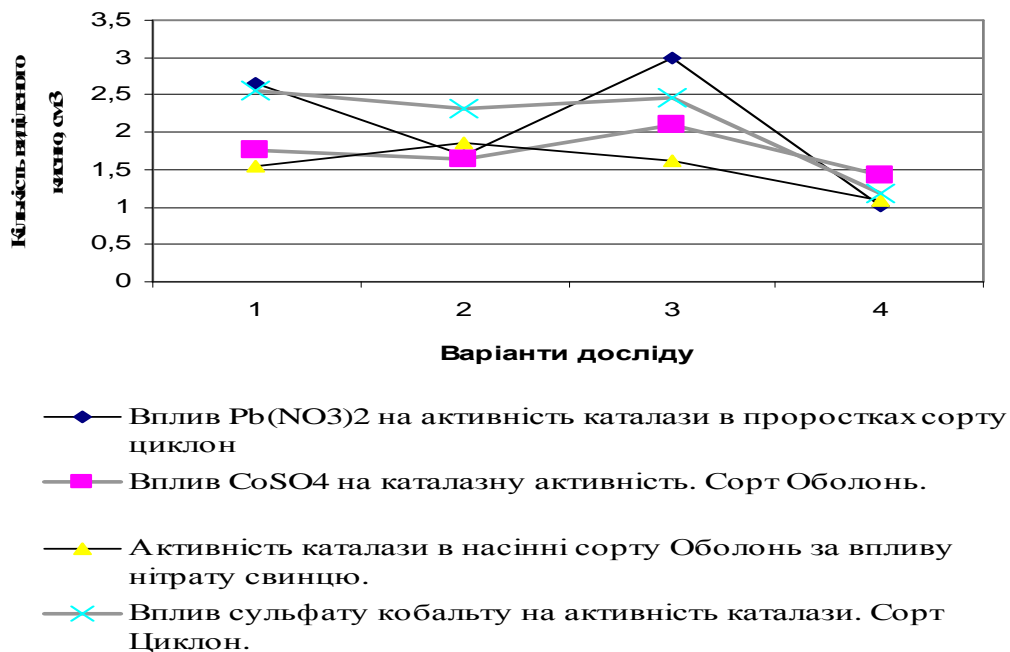


Рис.1. Порівняння впливу нітрату свинцю і сульфату кобальту на активність каталази у насінні ячменю сортів Оболонь і Циклон на 1-й день проростання.

1- контроль (H<sub>2</sub>O), 2 – 0,0001%, 3 – 0,01%, 4 – 1%.

Порівнюючи між собою зміни активності каталази у проростаючому насінні сортів Оболонь і Циклон за впливу солей кобальту і свинцю, виявили, що найбільші коливання активності відбувались при пророщуванні насіння сорту Циклон

на розчинах нітрату свинцю різних концентрацій. Активність каталази у проростаючому насінні сорту Оболонь змінювалась за дії різних концентрацій солей кобальту і свинцю менше, ніж у насінні сорту Циклон. Найбільш стабільною виявилась

активність цього ферменту у сорту Оболонь за дії різних концентрацій сульфату кобальту (рис.1).

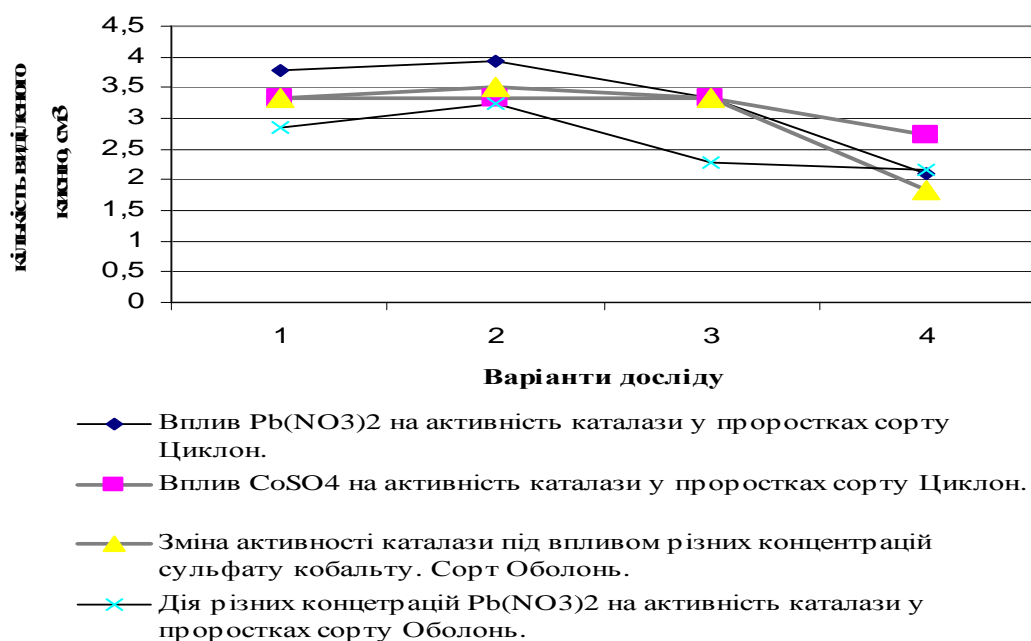


Рис.2. Порівняння впливу нітрату свинцю і сульфату кобальту на активність каталази у 3-денних проростках ячменю сортів Оболонь і Циклон. 1- контроль (H<sub>2</sub>O), 2 – 0,0001%, 3 – 0,01%, 4 – 1%.

У проростках на 3-й день проростання активність каталази виявилась вищою, ніж у насінні на перший день дослідів. Криві на рис.2 подібні між собою, спочатку можна помітити незначне зростання, а при збільшенні концентрації – зниження ферментативної активності. Найбільші достовірні зміни активності знову виявились у досліді з впливом нітрату свинцю на каталазну активність проростків сорту Циклон.

## Висновки

1. Активність каталази на третій день проростання була більшою, ніж на перший день проростання.

2. Концентрації солей кобальту і свинцю 0,0001% і 0,01% в основному значно не впливали на каталазну активність. Лише в досліді з пророщуванням насіння сорту Циклон на розчинах Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> реєстрували пониження її під впливом цих концентрацій.

3. Висока концентрація солей свинцю і кобальту (1%) або зменшувала активність, або мала тенденцію до пригнічення її на перший і на третій день проростання насіння.

4. Нітрат свинцю в обох сортах сильніше впливав на зміну активності каталази, ніж сульфат кобальту.

1. Игамбердиев А. У. Роль пероксисом у організації метаболізму рослин // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6. – №12. – С. 20-26.
2. Исидоров В. А. Введение в химическую экотоксикологию: Учеб. пособие. – Санкт-Петербург: Химиздат, 1999. – 144 с.
3. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
4. Коршиков И. И. Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. – К.: Наук. думка, 1996. – 240 с.
5. Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
6. Николайчук В. І., Белчгазі В. Й., Білик П. П. Фізіологія рослин: Практикум. – Ужгород, 1998. – 119 с.
7. Пацула О., Демків О. Каталаза та адаптація рослин соняшника до токсичної дії кадмію та свинцю // Вісник Львівського університету: серія біологічна. – 2003. – Вип. 34. – С. 225-230.
8. Ферменты, ионы и биоэлектрогенез у растений: Межвузовский сборник. – Горький: Изд. ГГУ, 1984. – 149 с.
9. Polidoros A. N., Scandalois J. S. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidant in the regulation of catalase and glutathione-S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.) // Physiologia Plantarum. – 1999. – Vol. 106. – P.112-120.

Отримано: 20 січня 2007 р.

Прийнято до друку: 1 лютого 2007 р.