

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ В ЗЕЛЕНИ ЛУКА РЕПЧАТОГО (*ALLIUM CEPA* L.)

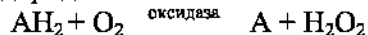
Е. Ю. Болотова, 2 курс

И. И. Величко, И. Н. Хохлова, 2 курс

*Научный руководитель – Т. А. Толкачева, преподаватель
Витебский государственный университет им. П. М. Машерова*

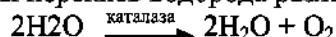
Ферменты – биологические катализаторы белковой природы. Ферменты обладают высокой специфичностью и играют важнейшую роль в процессах обмена веществ. Их активность в растительных клетках непостоянна и зависит от ряда факторов: вида растения и его органа, времени суток, температуры и влажности, при которой выращиваются растения, условий питания и ряда других факторов. Изучение действия ферментов и определение их активности наблюдают при помощи качественных и количественных реакций за исчезновением вещества, на которое действует фермент (субстрат) или за появлением продуктов реакции, образующихся в результате действия ферментах.

В процессе окисления ряда веществ в растениях под действием оксидаз образуется перекись водорода:



где AH_2 – восстановленный субстрат; A – окисленный субстрат.

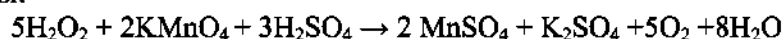
Перекись водорода в повышенных концентрациях оказывает токсическое воздействие на цитоплазму клеток. Под действием каталазы перекись водорода разлагается на воду и кислород:



Каталаза – двухкомпонентный фермент, состоящий из белка и простетической группы, содержащей железо.

В ходе настоящего исследования использован метод А.Н. Баха и А.И. Опарина [1] для определения активности каталазы в зелени лука репчатого (*Allium cepa* L.). Для получения зелени лук проращивали 2 недели. Луковицы севка диаметром примерно по 2 см очистили от кроющих чешуй, аккуратно срезали тонкий слой донца и поставили для проращивания в пробирки (объемом 20 мл) с дистиллированной водой. Через 72 часа опытные группы лука подвергли действию растворов $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, и одновременно действию биологически-активных веществ водного экстракта куколок шелкопряда на 48 часов. После этого времени луковицы росли на дистиллированной воде. Контрольная группа все время находилась в дистиллированной воде.

Активность каталазы определяют по количеству перекиси водорода, разложившейся под действием фермента. В реакционную смесь вносят избыток перекиси водорода. В контрольном образце каталазу инактивируют серной кислотой, в опытном образце часть внесенной перекиси водорода разлагается под действием фермента, а количество неразложившейся перекиси водорода определяют титрованием перманганатом калия в кислой среде. При этом происходит следующая реакция:



Количество разложившейся под действием фермента перекиси водорода в соответствии с приведенной реакцией находят по разности между опытным и контрольным титрованием.

Таблица – Активность каталазы в зелени лука при влиянии сульфата меди и водного экстракта куколок шелкопряда

№ опытной группы	Концентрация $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, мг/л	Концентрация экстракта, мл/100мл раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Активность каталазы, мкм
1	0,25	-	10,42
1'	0,25	10	12,08
1''	0,25	0,1	15
2	1,25	-	13,75
2'	1,25	10	9,58
2''	1,25	0,1	7,08
3	2,5	-	10
3'	2,5	10	9,17
3''	2,5	0,1	11,67
4	12,5	-	9,58
4'	12,5	10	10,83
4''	12,5	0,1	20,83
5	25	-	20
5'	25	10	22,5
5''	25	0,1	21,25
6	125	-	10,83
6'	125	10	15
6''	125	0,1	12,5
контроль	-	-	12,08

Для определения активности каталазы 2г растительного материала растирают в ступке с кварцевым (стеклянным) песком. В процессе растирания в ступку небольшими порциями добавляют точно 50мл воды. Растертую массу количественно переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют 10 минут при 4 тыс. об/мин. Для определения активности фермента из центрифужной пробирки берут 2 пробы по 20мл ферментной вытяжки. В одну приливают 5 мл 10%-ной сер-

ной кислоты для инактивации фермента. Затем в обе колбы добавляют по 20мл 0,1н раствора перекиси водорода. Реакцию разложения перекиси водорода проводят при 20°C в течение 30мин. После добавления каждого реактива содержимое колб тщательно перемешивают. Через 30мин фермент в опытной пробе инактивируют прибавлением в колбу 5мл 10%-ной серной кислоты.

Избыток перекиси водорода в каждой колбе оттитровывают 0,1н раствором перманганата калия до образования устойчивого окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Вычисление результатов. Активность каталазы выражается в микромолях перекиси водорода, разложившейся под действием фермента за 1мин в пересчете на 1г свежего растительного материала (таблица)

По сравнению с контролем активность каталазы снижается при воздействии на луковицы растворов сульфата меди в концентрациях 0,25 мг/л; 2,5 мг/л; 12,5 мг/л; и 125 мг/л и возрастает при концентрации 1,25 мг/л и 25 мг/л. При добавлении к растворам сульфата меди 10 мл водного экстракта куколок шелкопряда активность каталазы практически не изменяется, за исключением 6' опытной группы. При добавлении 0,1 мл водного экстракта куколок шелкопряда к соответствующим растворам сульфата меди, активность каталазы повышается, за исключением 2" опытной группы.

Соли тяжелых металлов вызывают окислительный стресс у растений, что отражается на активности ферментов.

Список использованных источников