

УДК 577.1

О. М. Василюк, О. М. Вінниченко

Дніпропетровський національний університет

ВПЛИВ ІОНІВ СВИНЦЮ ТА МАЛИХ ДОЗ РАДІАЦІЇ НА АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ У ПРОРОСТКАХ КУКУРУДЗИ

Наведено експериментальні дані відносно рівня активності каталази у проростках кукурудзи Дніпровський 310 під дією іонів свинцю в концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ М, малих доз радіації (2, 5, 10 та 15 Р) та їх спільної дії в умовах модельного дослідження.

The experimental results of changes of the catalase activity in the maize germinants under the influence of the lead ions and low doses of radiation separately and simultaneously are presented. The concentration of the lead was $1 \cdot 10^{-4}$ M and the radiation doses were 2, 5, 10, and 15 R.

Вступ

Адаптація рослинного організму до різних антропогенних чинників відбувається за допомогою ферментативної системи як однієї із систем захисту рослин від стресів. Ця адаптація – надійний тип біологічних адаптацій [9]. У зв'язку з цим вивчалась активність ферменту антиоксидантного захисту (АОЗ) рослин – каталази, яка бере участь у захисті тканин від вільно-радикального окислення (ВРО), надлишкової кількості гідроксид-іонів, пероксид-іонів, вільного кисню, що викликається впливом радіації, гербіцидів, важких металів.

Часткова детоксикація цих сполук відбувається двома класами споріднених ферментів – каталазами та пероксидазами. Ці ферменти каталізують двохелектронне відновлення H_2O_2 до H_2O , використовують пероксид водню як донор електронів у випадку з каталазами, або різні відновники – у випадку з пероксидазами [1; 5; 8]. Внаслідок роботи ферментів АОЗ усуваються негативні наслідки ВРО [1; 2; 3].

Каталаза міститься у пероксисомах і характеризується рекордно високою активністю при низьких концентраціях. При вивченні ізоферментного складу каталази з кукурудзи та квасолі з'ясовано, що гематин каталази проявляв слабку пероксидну активність, яка збільшується за умови поєднання його з апоферментом. Відомо, що каталаза в ендоспермі кукурудзи контролюється двома локусами: Ct_1 та Ct_2 . Контроль синтезу ферменту за двома локусами та множинність алелів по локусу Ct_1 підвищує поліморфізм каталази. При визріванні зерна спостерігаються форми каталази, які контролюються Ct_1 , а за умов пророщування – Ct_2 [12].

Відповідна реакція організму на рівні роботи ферментів АОЗ у поєднанні з іншими ферментами дозволяє зробити висновок про стійкість або нестійкість даного

виду рослин до різних видів антропогенного впливу. Стійкі рослини витриваліші (вище поріг ушкодження), а метаболічні процеси відбуваються з більшою швидкістю, ніж у нестійких форм [11]. Мета даної роботи – охарактеризувати динаміку активності каталази в онтогенезі рослин кукурудзи в умовах лабораторного дослідження.

Матеріал і методи досліджень

У роботі використовували кукурудзу сорту Дніпровський 310. Насіння пророщували в умовах лабораторного дослідження за такою схемою: 1) контроль; 2) 2 рентгени (R); 3) 5 R; 4) 10 R; 5) 15 R; 6) 2 R + $Pb(NO_3)_2 \cdot 10^{-4}$ M; 7) 5 R + $Pb(NO_3)_2 \cdot 10^{-4}$ M; 8) 10 R + $Pb(NO_3)_2 \cdot 10^{-4}$ M; 9) 15 R + $Pb(NO_3)_2 \cdot 10^{-4}$ M; 10) $Pb(NO_3)_2 \cdot 10^{-4}$ M.

Опромінювали насіння через добу від початку пророщування (150 mW, 6 mA, фільтр Cu_2 , фокусна відстань – 181 см, доза – 0,22 рентгена за хвилину). Загальна доза опромінення становила 2, 5, 10 та 15 рентген. Проби відбирали на 3-ю, 5-у, 7-у та 11-у добу пророщування.

Кукурудзу пророщували на водних розчинах нітрату свинцю в концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ M із додаванням солей нітрату кальцію та хлориду калію в концентраціях $5 \cdot 10^{-4}$ та $1 \cdot 10^{-3}$ M відповідно. У такому розчині відсутня шкідлива дія незбалансованості дво- та одновалентних катіонів, зменшується небажаний зсув pH, пов'язаний із швидким поглинанням проростками нітрат-іонів [6].

Активність каталази визначали з урахуванням кількості пероксиду водню, який розкладається під дією ферменту рослин на 1 г наважки за 30 хвилин [4]. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорда [10]. Отримані результати відповідають 5 % рівню значущості [7].

Результати та їх обговорення

При вивченні малих доз радіації в зерні проростків кукурудзи сорту Дніпровський 310 спостерігався процес інгібування питомої активності ферменту в переважній більшості варіантів дослідження упродовж періоду пророщування за винятком опромінення в 2 рентгени на третю добу пророщування (табл. 1–3). У останньому випадку спостерігається підвищення питомої активності каталази відносно контролю на 17 %. На п'яту добу пророщування підвищення активності спостерігається у варіанті опромінення 5 та 10 рентген. В інших варіантах дослідження при застосуванні більших доз радіації питома активність каталази знижувалася відносно контролю на 11–72 %. Значне зниження питомої активності каталази відбувалося в зерні проростків при подальших термінах пророщування: при опроміненні в 10 рентген питома активність каталази становила 1–3 % відносно контролю на сьому та одинадцяту добу пророщування.

Таблиця 1

Вплив малих доз радіації та іонів свинцю на активність каталази у зерні проростків кукурудзи

Варіант дослідження	Активність, $E, \cdot 10^{-3}$ мм H_2O_2 /г·хв.				Питома активність, ПА, $\cdot 10^{-3}$				ПА, %			
	Доба пророщування											
	3-я	5-а	7-а	11-а	3-я	5-а	7-а	11-а	3-я	5-а	7-а	11-а
1	11,8±0,59	7,7±0,38	11,3±0,51	4,0±0,18	98,3±4,80	78,1±3,85	202,0±11,0	100,0±4,48	–	–	–	–
2	11,5±0,48	8,1±0,41	10,8±0,48	3,1±0,15	115,0±0,51	67,5±3,41	38,3±1,65	38,3±1,63	117*	86*	19*	38*
3	11,2±0,38	8,7±0,42	12,5±0,61	3,1±0,12	37,3±1,75	87,0±4,03	153,0±7,51	47,8±2,35	38*	111*	77*	48*
4	11,8±0,61	9,0±0,51	11,4±0,58	3,3±0,14	59,0±2,91	112,5±5,63	1,9±0,09	33,3±1,58	60*	144*	1*	3*
5	10,9±0,45	8,5±0,43	11,2±0,49	3,3±0,15	87,8±4,31	75,9±3,83	166,5±8,03	27,8±1,43	89*	97	83*	28*
6	10,9±0,43	9,2±0,45	11,1±0,48	0,4±0,02	49,7±1,30	127,7±6,41	10,0±0,48	7,7±0,35	51*	163*	5*	8*
7	11,2±0,51	9,2±0,43	10,8±0,43	1,1±0,05	70,0±3,61	127,8±6,38	26,5±1,27	12,9±0,58	71*	164*	13*	13*
8	11,6±0,53	8,9±0,41	10,9±0,35	2,7±0,13	82,9±4,01	92,7±4,30	273,3±13,6	14,8±0,71	84*	119*	136*	14*
9	11,3±0,57	16,5±0,73	10,0±0,37	0,3±0,01	188,9±9,01	152,8±7,63	6,5±0,32	12,9±0,51	192*	195*	3*	3*
10	11,1±0,50	8,7±0,35	11,2±0,50	0,8±0,04	51,5±2,55	63,9±3,21	40,0±2,01	15,6±0,75	52*	82*	20*	15*

У варіантах досліду з комплексною дією радіації та іонів свинцю відбувається підвищення питомої активності каталази на п'яту добу пророщування на 19–95 % відносно контролю. У варіанті досліду з радіацією в 15 рентген на третю та п'яту доби пророщування питома активність ферменту становить 52–82 % відносно контролю. На подальших стадіях пророщування питома активність каталази достовірно нижча для всіх варіантів досліду. Виняток спостерігався у варіанті з одночасним впливом іонів свинцю та радіації в дозі 15 рентген на п'яту добу пророщування (19 %) та на сьому добу пророщування (36 % вище контролю) (див. табл. 1).

У варіанті досліду в листках проростків кукурудзи спостерігається процес поперемінного підвищення та зниження питомої активності каталази відносно контролю для всіх варіантів досліду упродовж усього онтогенезу. На п'яту добу пророщування питома активність ферменту достовірно нижча відносно контролю. Зниження питомої активності каталази у варіантах при моно впливі радіації становило 35–79 %, тоді як при комплексній дії антропогенних чинників питома активність каталази знижувалася від 41 до 70 %. На сьому добу пророщування спостерігалось значне підвищення питомої активності каталази при комплексній дії екзогенних чинників (у 2–6 разів). За умов впливу радіації питома активність каталази підвищена у 3–9 разів. На дев'яту добу пророщування питома активність ферменту достовірно нижча для всіх варіантів досліду. У варіанті при комплексній дії радіації в 2 рентгени та іонів свинцю питома активність перевищувала контроль у чотири рази. В інших варіантах досліду спостерігали інгібування питомої активності каталази на 32–90 % (див. табл. 2).

Таблиця 2

Вплив малих доз радіації та іонів свинцю на активність каталази в листі проростків кукурудзи

Варіант досліду	Активність, $E, \cdot 10^{-3}$ мм H_2O_2 /г·хв.				Питома активність, ПА, $\cdot 10^{-3}$				ПА, %			
	Доба пророщування											
	3-я	5-а	7-а	11-а	3-я	5-а	7-а	11-а	3-я	5-а	7-а	11-а
1	4,0±0,18	4,2±0,21	20,1±0,01	7,4±0,37	100,0±4,17	96,5±4,81	1006,5±50,3	93,2±4,57	–	–	–	–
2	5,2±0,20	7,3±0,35	22,5±1,12	5,6±0,28	65,0±3,25	33,3±1,66	1125,0±56,3	63,6±3,17	65*	512*	112*	68*
3	0,2±0,01	6,1±0,30	9,3±0,45	2,1±0,10	20,8±1,04	61,3±3,05	466,5±23,3	48,4±2,41	21*	943*	46*	52*
4	4,8±0,17	6,8±0,34	19,1±0,95	1,6±0,08	31,6±1,58	30,9±1,45	196,0±9,65	44,4±2,22	31*	475*	19*	48*
5	5,0±0,25	4,6±0,20	17,3±0,86	1,5±0,07	29,0±1,45	21,2±1,01	144,4±7,22	36,5±1,75	29*	326*	14*	39*
6	5,7±0,27	2,8±0,15	22,5±1,30	8,0±0,40	30,3±1,50	23,3±1,15	187,2±9,31	400,0±20,1	30*	359*	19*	429*
7	4,4±0,22	4,0±0,18	23,1±1,25	2,4±0,12	37,5±1,90	40,0±2,01	165,2±8,00	40,0±2,07	38*	615*	16*	43*
8	4,6±0,23	2,8±0,14	20,7±1,08	5,2±0,25	33,8±1,69	11,6±0,58	207,3±10,3	72,2±3,60	34*	179*	21*	77*
9	9,1±0,43	2,2±0,12	20,9±1,04	4,4±0,22	98,9±4,85	14,1±0,73	216,6±10,1	9,6±0,47	91*	217*	22*	10*
10	9,4±0,42	4,2±0,11	23,3±1,10	4,1±0,20	58,8±2,95	21,3±1,05	116,6±5,35	103,2±5,10	59*	327*	12*	111*

Таблиця 3

Вплив малих доз радіації та іонів свинцю на активність каталази у коренях проростків кукурудзи

Варіант досліду	Активність, $E, \cdot 10^{-3}$ мм H_2O_2 /г·хв.				Питома активність, ПА, $\cdot 10^{-3}$				ПА, %			
	Доба пророщування											
	3-я	5-а	7-а	11-а	3-я	5-а	7-а	11-а	3-я	5-а	7-а	11-а
1	4,0±0,20	1,3±0,07	4,9±0,23	4,7±0,23	45,5±2,27	22,2±1,10	245,0±12,2	93,2±4,55	–	–	–	–
2	0,3±0,02	1,5±0,07	9,7±0,47	6,7±0,33	2,9±0,15	12,2±0,57	486,5±23,3	222,0±11,0	6*	55*	199*	238*
3	0,7±0,03	1,6±0,08	2,3±0,11	1,7±0,08	7,0±0,35	20,0±1,00	113,0±5,5	66,5±3,35	15*	90*	46*	71*
4	1,1±0,05	1,5±0,05	12,3±0,57	6,7±0,27	12,5±0,55	7,3±0,35	306,5±14,3	158,6±7,85	28*	33*	125*	170*
5	1,0±0,06	0,7±0,03	3,9±0,18	3,7±0,18	13,9±0,65	6,6±0,31	96,5±4,5	124,3±6,20	31*	30*	39*	133*
6	1,5±0,07	1,3±0,06	17,8±0,91	6,0±0,31	18,8±0,91	4,3±0,21	445,0±22,3	75,0±3,57	41*	20*	182*	80*
7	0,3±0,02	0,1±0,01	10,9±0,53	6,4±0,32	3,4±0,17	1,1±0,05	136,7±6,8	177,7±8,73	8*	5*	56*	190*
8	1,0±0,05	1,9±0,09	14,6±0,65	2,7±0,13	12,5±0,58	11,6±0,53	244,3±12,2	66,5±3,35	28*	52*	100*	71*
9	0,7±0,03	1,9±0,08	17,7±0,90	8,4±0,42	7,9±0,38	15,5±0,75	221,6±11,1	89,4±4,45	17*	70*	90*	96*
10	1,5±0,06	1,5±0,07	10,1±0,47	7,3±0,35	18,7±0,83	18,2±0,85	126,6±6,35	244,3±12,2	41*	82*	52*	262*

Крім цього, вивчали вплив малих доз радіації та іонів свинцю на активність каталази в коренях проростків гібриду кукурудзи. На п'яту добу пророщування питома активність каталази була знижена на 69–94 % відносно контролю. У варіантах із застосуванням комплексної дії екзогенних чинників питома активність каталази становила 8–41 % відносно контролю. На сьому добу пророщування питома активність каталази зберігала достовірно низькі значення відносно контролю. На дев'яту добу пророщування у варіантах досліді з моно впливом радіації в дозі 2 та 10 рентген відбувається підвищення питомої активності ферменту антиоксидантного захисту рослин на 25–99 % відносно контролю. У варіанті із застосуванням іонів свинцю та радіації (2 рентгени) підвищення питомої активності каталази становило 82 % відносно контролю. Для всіх варіантів досліді спостерігалось значне підвищення питомої активності ферменту на одинадцяті добу пророщування (табл. 3). В експериментальній групі з впливом радіації підвищення активності каталази відбувалося при опроміненні в 2, 5 та 10 рентген (на 33–138 % відносно контролю).

У варіанті досліді при опроміненні в 5 рентген питома активність становила 70 % відносно контролю. У другій експериментальній групі рослин, де вивчали комплексну дію антропогенних чинників, підвищення питомої активності каталази становило 90 % на фоні 5 рентген та 162 % на фоні 15 рентген. На фоні опромінення в 10 рентген питома активність ферменту становила 70 % відносно контролю.

Висновки

В умовах лабораторного досліді спостерігали динаміку реакції каталази як елемента антиоксидантної системи на негативні чинники навколишнього середовища. Ферменти антиоксидантного захисту рослин сприяють підтриманню гомеостазу рослин за умов зміни навколишнього середовища.

Бібліографічні посилання

1. **Воздействие** тяжелых металлов, радиации и гербицидов на функциональное состояние растений в агрофитоценозах / Н. П. Коцюбинская, В. С. Бильчук, Е. М. Васильюк, С. И. Старикова // *Фундаментальные проблемы окружающей среды. Тезисы докл. Междунар. конф.* – Томск: Томский гос. ун-т, 1995. – С. 9.
2. **Вплив** радіації та свинцю на морфометричні та біохімічні показники сільськогосподарських рослин / О. М. Васильюк, О. М. Вінниченко, В. С. Більчук та ін. // *Шляхи раціонального використання земельних ресурсів України. Тези доп. Міжнар. конф.* – Чабани, 1995. – С. 78.
3. **Коцюбинська Н. П.** Аутоекологічна адаптація культурних рослин до антропогенних факторів довкілля. Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. – Д.: ДГУ, 1996. – 40 с.
4. **Починок Х.** Методы биохимического анализа растений. –К.: Наукова думка, 1976. – 333 с.
5. **Практическая химия белка** / Под ред. А. Дарче. – М.: Мир, 1989. – 297 с.
6. **Растения** в экстремальных условиях минерального питания / Под ред. М. Я. Школьника. – М.: Наука, 1983. – 176 с.
7. **Рокицкий П. Ф.** Биологическая статистика. – Минск: Вышэйшая школа, 1967. – 326 с.
8. **Таланова В. В.** Влияние свинца и кадмия на проростки ячменя / В. В. Таланова, А. Ф. Титов, Н. П. Боева // *Физиология и биохимия культ. раст.* – 2001. – Т. 33, № 1. – С. 33–37.
9. **Хочачка П.** Стратегия биохимической адаптации / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М.: Мир, 1977. – 398 с.
10. **Bradford M. M.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.
11. **Catalase** and antioxidants in the connection of the free-radical oxidation / E. Vasiluk, V. Bilchuk, N. Kotzubinskaya, L. Shupranova // *Abstr. 23-th FEBS Meeting.* – Switzerland, Basel, 1995. – P. 203.
12. **Scandalios J. G.** Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants. A review // *Biochem. Gen.* – 1969. – Vol. 3. – P. 37–39.

Надійшла до редколегії 10.02.06.