

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНОЙ КАТАЛАЗЫ**

**Бикмухаметова З.Н., Хузиахметова А.Н.**

*Казанский национальный исследовательский технологический университет*

В последнее время проблема загрязнения окружающей среды стала глобальной. Это связано с увеличением объемов химических отходов, сбрасываемых в воду, воздух и на поверхность почвы, что представляет реальную угрозу для живого мира планеты и, в частности, для растений.

В современных условиях природная среда подвержена комбинированному техногенному загрязнению. Известно, что в связи с жизнедеятельностью человеческой цивилизации синтезируются и попадают в окружающую среду сотни тысяч новых химических соединений с невыясненными токсикологическими характеристиками.

Среди загрязнителей особое место занимают тяжелые металлы. Это антропогенное явление породило новый, ранее не свойственный растениям, вид стресса. Такой вид стрессового воздействия имеет свои особенности.

Проблема негативного влияния тяжелых металлов на физиологические процессы у растений уже не новая, но изученная еще недостаточно. В частности, мало изучены влияния некоторых тяжелых металлов на физиологические процессы, которые происходят на начальных этапах роста растений. Известно, что поступление свинца в растения приводит к оксидативному стрессу и образованию активных форм кислорода, например, перекиси водорода. Оксидативный стресс является одним из типов повреждений, вызванных тяжелыми металлами. Известно, что оксидоредуктазы могут противодействовать действию тяжелых металлов. Во время этого стресса, в частности, образуется супероксид аниона, который в дальнейшем ведет к продуцированию гидроксильных радикалов и перекиси водорода. Перекись водорода является сигналом для активации защитных систем, активатором экспрессии генов и активатором процессов, что приводит к стойкости растений. Одним из ферментов таких защитных систем является каталаза [2].

Каталаза широко распространена в организме человека и животных, во всех растениях и микроорганизмах, за исключением облигатных анаэробов.

Сущность каталитического действия каталазы заключается в разложении перекиси водорода с выделением молекулярного кислорода. Каталаза характеризуется высокой удельной каталитической активностью, почти не нуждается в энергии активации. Также каталаза и другие подобные ей ферменты могут моделировать гомеостаз перекиси водорода и, соответственно, его сигнальную способность.

Активность растительной каталазы часто рассматривается как показатель загрязнения среды, в которой развивается данное растение. Поэтому измерение активности каталазы является одним из приемов выявления загрязнений в методе фитоиндикации. Так изменение активности каталазы необходимо связывать с различными условиями произрастания растений - в основном с наличием в почве солей тяжелых металлов, что подтверждается проведенными выше исследованиями.

Действие ионов металлов на ферментативный аппарат может реализоваться путем прямого их участия в контроле ферментативной активности и опосредствовано - через изменение общего состава ионов в клетке, свойств цитоплазмы и структуры мембран, интенсивности и направления определенных метаболических процессов, а как следствие, изменения уровня тех или других метаболитов [6].

Исследования влияния различных химических соединений на биологические молекулы, в том числе на ферменты, весьма актуальны в настоящее время, поскольку они дают возможность выявить новые тест-функции для мониторинга окружающей среды.

Нами были проведены исследования активности фермента каталазы в прорастающих семенах ячменя (*Hordeum vulgare L.*) (сорта Раушан) при определенных концентрациях солей свинца и кобальта и выявили эффективность использования фермента каталазы в качестве биомаркера загрязнения окружающей среды.

Ячмень часто используется как тест-объект в методах биотестирования загрязнения различных компонентов окружающей среды. В данной работе исследуется степень изменения активности каталазы проростков ячменя в ответ на модельное загрязнение солями тяжелых металлов: свинца и кобальта.

На сегодняшний день существует несколько методов определения активности каталазы в растениях: титрометрический метод определения активности каталазы по А. Н.Баху и А.И.Опарину [3]. Метод основан на учете неразложившейся перекиси водорода с помощью перманганата калия. Следующий метод заключается в способе определения активности каталазы в биологических объектах путем окрашивания пробы раствором, содержащим йодистый калий, с последующим анализом. Достаточно широко используется колориметрический метод [1]. Принцип метода основан на способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Метод газометрического определения активности каталазы основан на определении объема кислорода после прибавления к водному экстракту из растений, содержащему каталазу, перекиси водорода [5].

Выполнение данного исследования так же включала создание модели экосистемы, так как исследования влияния определенных токсикантов на активность каталазы целесообразно проводить в модельной экосистеме. Такой подход в исследовании позволяет исключить влияние других факторов на активность каталазы в зависимости от концентраций тяжелых металлов.

Моделирование экологических процессов и проведение эколого-биохимических исследований включает в себя разработку моделей для понимания, предсказания и оценки нынешних и вероятных будущих воздействий и реагирования экосистем на множество стрессов на разных уровнях. Модельная экосистема позволяет имитировать поведение системы или ее компонентов при заданных условиях, не прибегая к проведению эксперимента над всей системой и обеспечивая сохранение внешних условий, близких к естественным, а также позволяет формировать требуемые начальные и текущие условия эксперимента и эффективный контроль в течение заданного промежутка времени [4].

Используемая в нашем эксперименте модель включала следующие факторы:

- а) постоянные - температурный режим (19-20<sup>0</sup>С), освещение, влажность;
- б) переменные – концентрации токсикантов (соли кобальта и свинца), время воздействия токсикантов.

Семена ячменя (сорт Раушан) проращивали на фильтровальной бумаге, смоченной растворами разных концентраций (0,0001%; 0,01%; 1%) сульфата кобальта и нитрата свинца при температуре 20<sup>0</sup>С. Активность каталазы определяли в семенах при проращивании его через одни сутки и через три сутки после закладки опыта. Ферментативную активность определяли газометрическим методом [5].

Исследуя действие разных концентраций нитрата свинца на активность каталазы в прорастающих семенах ячменя через одни сутки после высева, обнаружили понижения ее в вариантах с 0,0001% и 1% растворами. При проращивании семян на 0,01% растворе Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> достоверных изменений не регистрировали, но было незначительное

повышение выделения кислорода. Активность каталазы в трехдневных проростках самой низкой оказалась в варианте с 1% раствором нитрата свинца. 0,01% раствор также подавлял действие каталазы.

Активность каталазы под влиянием солей нитрата свинца в исследуемых пробах на первый и третий дни прорастания представлены на рисунке 1.

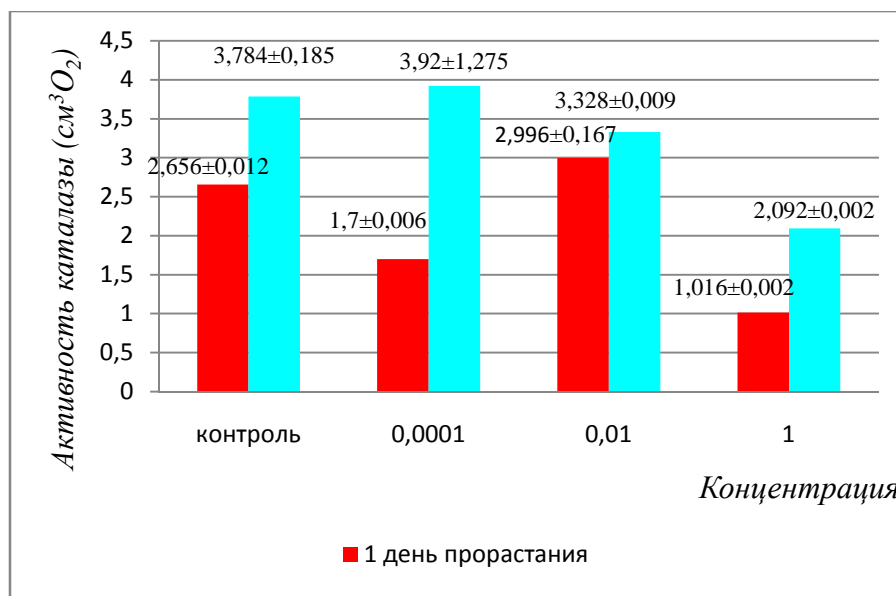


Рис.1 Активность каталазы в присутствии нитрата свинца

Анализ диаграммы показывает, что активность фермента во всех случаях возрастает на третий день прорастания семян. Такое возрастание является закономерным, так как процесс прорастания любых семян сопровождается активацией целого ряда оксидоредуктаз, в том числе каталазы.

При 0,0001% растворе соли свинца активность каталазы падает на первый день прорастания на 36%, при 1% концентрации соли – на 61,7% по сравнению с контролем. При 0,01% растворе нитрата свинца активность каталазы увеличивается на 12,8% по сравнению с контролем.

На третий день прорастания семян ячменя, с одной стороны, при 0,01% и 1% концентрации раствора нитрата свинца активность каталазы падает на 12,1% и 44,7% соответственно. С другой же стороны, происходит незначительное возрастание активности каталазы (3,6%) по отношению контроля на третий день прорастания в присутствии 0,0001% раствора соли нитрата свинца.

Аналогично были проведены исследования изменения активности каталазы семян, прорастающих под влиянием сульфата кобальта.

Действие сульфата кобальта на активность каталазы достоверно проявилось лишь на 1 день прорастания семян в варианте с 1 % концентрацией этой соли. Здесь наблюдалось понижение активности фермента. В трехдневных проростках значительных изменений активности не обнаружили, наблюдается тенденция к ее снижению под воздействием 1 % концентрации  $\text{CoSO}_4$ .

Изменение активности каталазы в семенах ячменя в присутствии солей кобальта приведено на диаграмме (Рис. 2.).

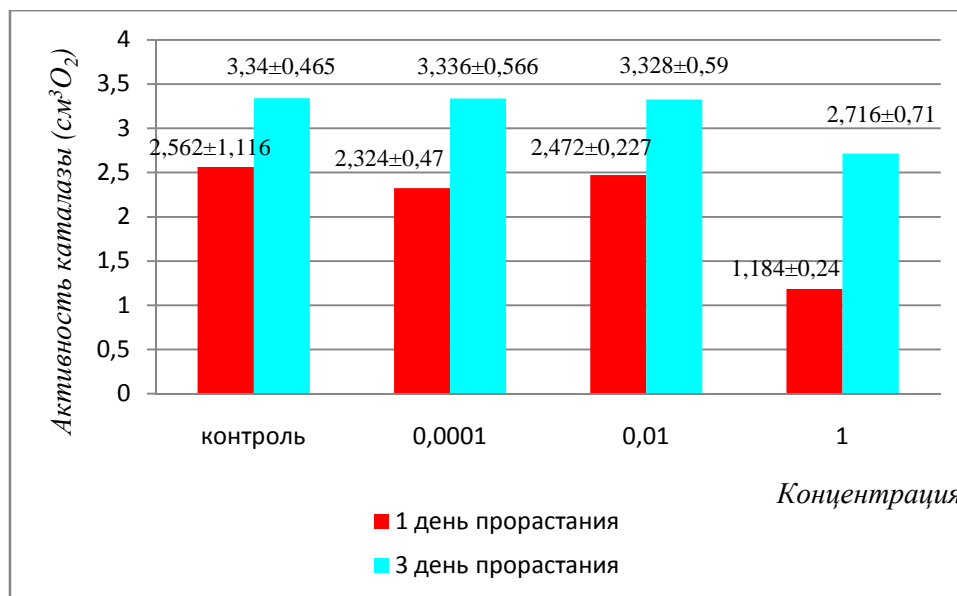


Рис. 2. Активность каталазы в присутствии сульфата кобальта

Анализ исследований действия разных концентраций сульфата кобальта на активность каталазы в прорастающих семенах ячменя показал, что активность фермента падает в первый день прорастания на 9,3% при 0,0001% растворе соли и на 53,8% при 1% растворе соли кобальта. Так же наблюдается незначительное понижение активности фермента в присутствии 0,01% концентрации соли на 3,5% по отношению к контрольному опыту.

На третий день прорастания семян ячменя наблюдается незначительное снижение активности каталазы при 0,0001% и 1% концентрациях соли кобальта на 0,2% , 0,36% и при концентрации соли в 0,01% - на 18,7% по отношению контроля.

Обобщая результаты эксперимента можно отметить, что в проростках на третий день прорастания семян активность каталазы оказалась выше, чем в семенах на первый день опыта. Сравнивая между собой изменения активности каталазы в прорастающих семенах при влиянии солей кобальта и свинца, обнаружили, что сульфат кобальта больше влиял на колебание активности фермента у сорта Раушан на первый день прорастания, а нитрат свинца – как на первый, так и на третий дни прорастания семян.

Активность растительной каталазы часто рассматривается как показатель загрязнения среды, в которой развивается данное растение. Поэтому измерение активности каталазы является одним из приемов выявления загрязнений в методе фитоиндикации. Так изменение активности каталазы необходимо связывать с различными условиями произрастания растений - в основном с наличием в почве солей тяжёлых металлов, что подтверждается проведенными выше исследованиями.

#### Список литературы:

1. Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности каталазы// Биохимия / А.Н.Бояркин. 1951. – Т. 16, вып.4.
2. Исидоров В. А. Введение в химическую экотоксикологию: учеб. пособие / В.А.Исидоров. – СПб.: Химиздат, 2000.
3. Королук М. А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело / М.А.Королук, Л.И.Иванова, И.Г.Майорова, В.Е.Токарев В. 1988. – № 1.
4. Мизинцев В.П. Применение моделей и методов моделирования в дидактике / В.П.Мизинцев. - М.: Знание, 1977.
5. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений / Б.П.Плешков. - М.:Наука, 1976.