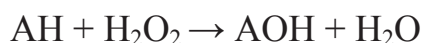


ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗ В ЛИСТЬЯХ РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МОРОШКИ ПРИЗЕМИСТОЙ

Морошка приземистая редкое реликтовое растение перигляциальной флоры. В Республике Беларусь расположена на южной границе своего ареала. Таксон включен в Красную книгу Беларуси и относится ко II-ой национальной категории охраны (соответствует статусу EN, по международной системе IUCN). Является перспективным ресурсным видом для нужд селекции в ягодоводстве и для рекультивации выработанных торфяников. Отличается высоким содержанием разнообразных биологически активных веществ. Биохимический состав морошки приземистой варьируется в зависимости от зоны произрастания и климатических условий.

Пероксидазы – окислительно-восстановительные ферменты, которые среди множества других обладают полифункциональными свойствами. Пероксидаза является двухсубстратным ферментом, который катализирует реакции окисления субстратов за счет кислорода перекиси водорода:



«Растительные» пероксидазы являются гемсодержащими гликопротеинами. Гем, выполняя роль активного центра, участвует в разложении или активации перекиси водорода, в результате чего образуются промежуточные радикалы соответствующих субстратов. Углеродные цепи предохраняют фермент от инактивации радикалами, образующимися в ходе реакций, и увеличивают термическую стабильность пероксидаз. Ферменты обладают широкой субстратной специфичностью [1]. Согласно Международной классификации ферментов, пероксидазы (КФ 1.11.1.X) – это ферменты, действующие на перекись водорода в качестве акцептора электронов.

Пероксидазы характеризуются наличием большого числа изоферментов, что говорит о важной физиологической роли в клетках различных организмов. В настоящее время установлено, что активность изоформ пероксидаз сильно зависит от присутствия определенных субстратов, поэтому физиологические функции отдельных изоформ ферментов значительно различаются и определяются их суб-

стратной специфичностью. У растений отмечается наличие как ферментов, общих для всех тканей, так и изоферментов, специфичных только для отдельных органов или образующихся лишь в определенные периоды развития растения [2]. Изоферменты нужны для биосинтеза лигнинов, меланинов и других вторичных метаболитов, необходимых для нормального роста и функционирования растений. Пероксидазная активность, вероятно, может служить индикатором для определения половой дифференциации клонов растений [3]. Этот факт является определяющим для процесса плодоношения морошки приземистой, так как растение имеет однополые, одиночные цветки, которые находятся на разных представителях.

Для определения активности пероксидазы получали обогащенные фракции растительного материала путем экстрагирования 0,02 М трис-ацетатным буферным раствором (рН 7,0) из расчета 5 мл на 1 г растительного материала. Экстракцию проводили в течение 30 мин при температуре 4°C. Обогащенную фракцию отделяли центрифугированием при 6 000 мин⁻¹ на протяжении 10 мин. Концентрацию белка определяли методом Варбурга и Христиана и(или) методом Лоури [4].

Пероксидазную активность определяли спектрофотометрическим методом. Проводили измерение при постоянном перемешивании оптической плотности смеси, содержащей обогащенную фракцию в подобранном разведении, субстрат (о-дианизидин) и перекись водорода, автоматическое введение которой запускало реакцию. Использовали спектрофотометр Specord 200 PLUS (Analytik Jena, Германия). Измерения проводили при длине волны 460 нм, которая позволяет регистрировать изменение экстинкции вещества – концентрации продукта реакции. Проводился расчет величины начальной скорости реакции – тангенса угла наклона касательной к кинетической кривой в нулевой точке (изменение экстинкции в секунду E/S).

Каждое определение проводили 3 раза и за результат измерения принимали среднее арифметическое значение E/S. Величину удельной пероксидазной активности (АП) вычисляли по формуле методики [4].

Пероксидазы играют важное значение в метаболизме растений. Поэтому в черешках фермент активнее нежели в листовых пластинках (см. табл.). Больше содержание белка обнаружено у образцов из заказника «Лонно», где популяционные и экологические характеристики так же указывают на оптимальные условия произрастания.

Таблица - Результаты исследований по определению активности пероксидазы в листьях морошки приземистой

№ образца	Место сбора	Объект исследования	Содержание белка, мг/г абсолютно сухого сырья	АП, мкмоль/мг белка
1	Заказник «Лонно», Полоцкий р-н, Витебская обл.	Листовые пластинки	393,99±1,65	$(2,956 \pm 0,121) \cdot 10^{-3}$
2	Нацпарк «Нарочанский», Мядельский р-н, Минская обл.	Листовые пластинки	363,11±1,67	$(2,853 \pm 0,123) \cdot 10^{-3}$
3	Заказник «Болото Великий Мох», Миорский р-н, Витебская обл.	Листовые пластинки	335,32±1,54	$(4,196 \pm 0,112) \cdot 10^{-3}$
4	Заказник «Лонно», Полоцкий р-н, Витебская обл.	Черешки	100,00±0,95	$(12,700 \pm 0,131) \cdot 10^{-3}$
5	Нацпарк «Нарочанский», Мядельский р-н, Минская обл.	Черешки	72,19±0,89	$(24,350 \pm 0,218) \cdot 10^{-3}$
6	Заказник «Болото Великий Мох», Миорский р-н, Витебская обл.	Черешки	83,34±1,23	$(26,210 \pm 0,192) \cdot 10^{-3}$

активность наибольшая у образцов из заказника «Болото Великий Мох», где популяционное поле расположено в пределах послепожарной трансформации растительного сообщества и может являться индикатором стресса.

Работы выполнены при поддержке БРФФИ по проекту Б19ЛАТГ-004.

ЛИТЕРАТУРА

1. Koua D., Cerutti L., Falquet L., Sigrist C.J., Theiler G., Hulo N., Dunand C. PeroxiBase: A database with new tools for peroxidase family classification // *Nucleic Acids Res.* – 2009. – V. 37. – P. D261–D266.
2. Banci L. Structural properties of peroxidases. // *J. Biotechnol.* – 1997. – V. 53, № 2–3. – P. 253–263.
3. Neelam Bansal, Shamsher S. Kanwar Peroxidase(s) in Environment Protection // *The Scientific World J.* – 2013. – V. 13. – P. 1–9.
4. Леонтьев, В. Н. Биохимия. Лабораторный практикум / В. Н. Леонтьев, Т. И. Ахрамович. – Минск: БГТУ, 2008. – 218 с.