

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ НА РАЗНЫХ СОРТАХ КАРТОФЕЛЯ ЗАРАЖЁННЫЕ С X ВИРУСОМ КАРТОФЕЛЯ

З. А. Биназова

¹Чирчикский государственный педагогический институт Ташкентской области
(ЧГПИ ТО), студент

Д. Т. Жавлиева

²Преподаватель кафедры Чирчикского государственного педагогического
института
Ташкентской области

Б. В. Файзиев

Заведующий кафедры биологии ЧГПИ ТО, доктор биологических наук, доцент

АННОТАЦИЯ

В ходе метаболизма в клетках и тканях растений образуются активные формы кислорода, защита от которых осуществляется высокоактивной антиоксидантной системой, включающей в себя определенный набор низко- и высокомолекулярных соединений. К группе низкомолекулярных антиоксидантов относятся дигоксин, аскорбиновая кислота, гидрохинон, мочевиная кислота, мелатонин, глутатион и др. В комплекс высокомолекулярной системы антиоксидантной защиты входят ферменты, которые формируют защитные реакции растений от пероксидного окисления жизненно важных веществ и компонентов внутриклеточных структур [1, 4, 7, 13].

ВВЕДЕНИЕ

Ключевыми ферментами антиоксидантной системы растений являются пероксидазы, которые представляют собой сложные белки-гликопротеиды, содержащие в качестве простетической группы протогем. В клетках высших растений эти ферменты локализованы в хлоропластах и митохондриях, пероксисомах и глиоксисомах, в клеточной стенке, вакуолях, каналах шероховатого эндоплазматического ретикулума, пузырьках и цистернах аппарата Гольджи [3, 8, 11, 12, 14, 16].

Пероксидазы обладают высокой термоустойчивостью, поэтому после стерилизации растительной продукции тепловой обработкой для последующего хранения и переработки в ней определяется активность этих ферментов. Пероксидазы являются чувствительными индикаторами самых различных неблагоприятных воздействий внешней среды на растения [5, 9, 10, 15].

ЛИТЕРАТУРА И МЕТОДОЛОГИЯ

В существующих методиках определения активности пероксидаз ферменты выделяют из растительного материала путем экстракции обессоленной водой или ацетатным буфером. По одному из известных методов ферментативную реакцию проводят при смешивании полученного экстракта фермента с раствором бензидина и пероксида водорода. Активность фермента оценивают по интенсивности окрашивания раствора бензидиновой синью, образующейся под действием фермента из бензидина [2].

При определении активности пероксидаз также очень широко используется метод, в основу которого положена ферментативная реакция окисления пирогаллола с участием пероксида водорода. В ходе этой реакции образуется окрашенное соединение пурпурогаллин, позволяющий оценивать активность пероксидаз колориметрическим методом [8].

Мы работали по методике <<Бояркина>>, определения активности пероксидазы в растениях, концентрацию которой можно измерить спектрофотометрически в ультрафиолетовом диапазоне.

Цель работы: Определение активности пероксидазы на разных сортах картофеля и разных ярусах растений, при заражении X вируса картофеля.

Методика исследования: В ходе исследований оптимизированы условия среды при проведении ферментативной реакции пероксидазы, которые были выделены на 3х сортах картофеля с разными ярусами. Реактивы:

1. 0,15 М ацетатный буфер с pH 5,5.
2. 0,15%-й раствор перекиси водорода.
3. 0,005 М раствор бензидина.

Ход анализа навеску растительного материала 1000 мг положили в шприц и добавили 5 мл ацетатного буфера и держали под давлением в течение 1 мин по 3 повтора. После полученный экстракт центрифугируем при 8.000 об/мин в течение 15 минут. Навеску полученный супернатант-1 откладываем а растительный материал растираем в фарфоровой ступке с ацетатным буфером 5

мл и полученный гомогенат центрифугируем при 3000 об/мин в течение 15 минут.

В опытную кювету спектрофотометра с внесением первой капли перекиси водорода включают секундомер. Первое измерение проводят через 20 с. Отсчеты снимают несколько раз через 20 с в течение 1-2 мин или другого интервала времени. Предварительно устанавливают в нулевом положении стрелку амперметра прибора по контрольной кювете, в которую вносят компоненты реакционной смеси. Оптическую плотность растворов измеряют при 670 нм. Активность A выражают в относительных единицах на 1 г сырой массы (или на единицу белка) по формуле:

По найденной скорости реакции вычисляют активность A фермента

$$A = \frac{D_{abv}}{ct},$$

где D - оптическая плотность, равная 0,125 или 0,250; a - отношение количества жидкости, взятой для приготовления вытяжки, к массе сырой ткани $\text{см}^3/\text{г}$; b -степень дополнительного разведения вытяжки после центрифугирования; v - степень постоянного разведения вытяжки в реакционной смеси в кювете; c -толщина слоя t - время, с.

Результаты исследований. Исследование проводилось на листе картофеля (зараженным X вирусом картофеля и не зараженном). Материал брали с 3х частей растения (верхней, средней, нижней части) и сравнивали активность пероксидазы (таб1). Также у исследуемых растений были определены оптимальные значения активности и термостабильности растворимой пероксидазы. Во всех изученных видах, наблюдалось смещение оптимума рН для пероксидазы, что связывают с преобладанием разных форм фермента на разных периодах жизни растения. Это может быть обусловлено как естественной сменой стадий онтогенеза растений так и влиянием внешних экологических условий. Также наблюдалось изменение термостабильности исследуемого фермента у всех изучаемых растений. Изменение этого показателя может свидетельствовать о том, что температура окружающей среды в месте произрастания растений оказывает существенное влияние на физико-химические свойства фермента.

Ферментативная активность была изучена на трёх, привозных сортах, таких как Разара, Наташа и Гала. Разара - высокоурожайный раннеспелый сорт картофеля, Родина Германия. Наташа - высокоурожайный раннеспелый

сорт картофеля, Родина Германия. Гала - элита среди высокоурожайных раннеспелых сортов картофеля немецкой селекции. Среднее показание активность пероксидазы показано на рисунке (Рис. №1).

Таблица №1

Активность пероксидазы на больных и здоровых сортах картофеля, и на разных ярусах

Изученный ярус	Сорт картофеля					
	Разара	Наташа	Гала	Разара	Наташа	Гала
	Зараженное растение			Здоровое растение		
	Активность пероксидазы, ед/мл					
Верхний	2,61	1,89	1,22	1,44	0,88	0,36
Средний	2,11	1,64	0,79	1,55	1,12	0,63
Нижний	1,87	1,33	0,65	1,79	1,32	0,71

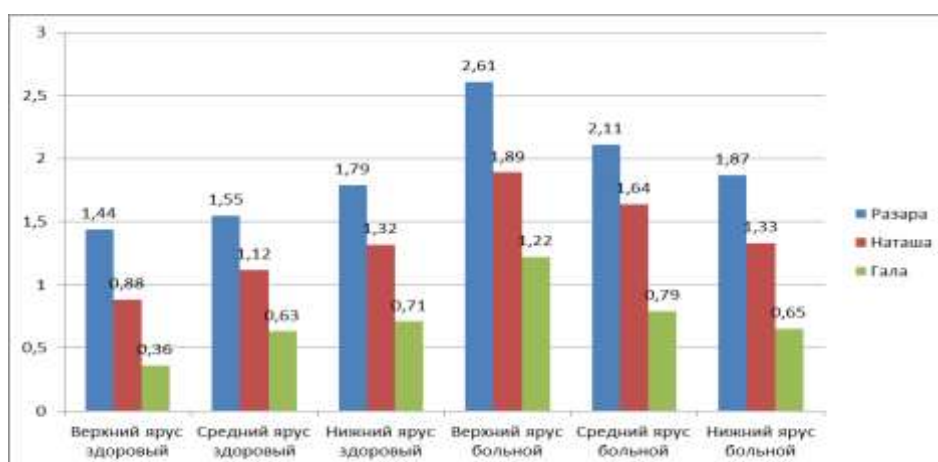


Рис.1 Вычисление активность пероксидазы на больных и здоровых сортах картофеля, и на разных ярусах

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показало что на активность пероксидазы огромное влияние играют внешние факторы окружающей среды. По проведенному эксперименту, мы сравнивали 3 сорта картофеля, каждый из которых был заражен X вирусом картофеля. И самыми высокими показателями является сорт картофеля <<Разара>>который оказался наиболее защищенный от вируса. По его показателям мы сделали вывод что у зараженного растения активность пероксидазы выше чем у остальных сортов. Отсюда идет вывод

что верхний ярус был наиболее поражен вирусом и за счет этого активность пероксидазы выше чем в остальных ярусах и других сортах картофеля. И мы должны уделять особое внимание при определении активности пероксидазы на разных ярусах растений зараженных с фито вирусом, которая играет важную роль при борьбе с вирусом.

REFERENCES

1. Андреева В.А. Фермент пероксидаза. Участие в защитном механизме растений. М.:Наука, 1988. 129 с.
2. Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы // Биохимия. 1951. Т. 16. Вып. 4. С. 352–355.
3. Рогожин В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. СПб., 2004. 240 с.
4. Рогожин В.В., Верхотуров В.В., Кирилюк Т.Т. Антиоксидантная система в прорастании семян пшеницы // Известия АН. Серия биологич. 2001. № 2. С. 165–173.
5. Рогожин В.В., Курилюк Т.Т. Влияние ультрафиолетового облучения семян на процессы перекисного окисления липидов в проростках пшеницы // Биохимия. 1996. Т. 61. № 8. С. 1432–1439.
6. Савич И.М. Пероксидазы — стрессовые белки растений // Успехи современной биологии. 1989. Т. 107. Вып. 3. С. 406–417.
7. Fayziyev Vahid Bakhranovich, Vakhobov Abdurasul (2019). The study of the biological properties of potato virus X in common environmental conditions of Uzbekistan. European Sciences review, № 1–2 (January–February). Volume 2, p. 46-50.
8. З.А. Биназова, В.Б. Файзиев. ШТАММОВЫЕ РАЗНОБРАЗНОСТИ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСПЫ-СЛИВЫ. ПРОГРАММА II международной научно-теоретической конференции «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК» (19 мая, 2021 г.)
9. Fayziev, V., Jovlieva, D., Juraeva, U., Shavkiev, J., Eshboev, F. (2020). Effects of PVXN-UZ 915 necrotic isolate of Potato virus X on amount of pigments of Datura stramonium leaves. Journal of Critical reviews, Vol 7, Issue 9. – P. 400-403. ISSN-2394-5125. DOI: <http://dx.doi.org/10.31838/jcr.07.09.82>
10. Файзиев, В.Б., Жавлиева, Д.Т., Жураева, У.М., Вахобов, А.Х., Кадирова З.Н. (2019). Изучение распространения и определение растений резерваторов X и L

вирусов методом иммуноферментного анализа. Научное обозрение: Биологическое науки, 2, №4,. -с. 79-86.

11. Жавлиева, Д. Т., Тўражонова, Э., & Файзиев, В. Б. (2020). KARTOSHKA X ВИРУСИ НЕКРОТИК ИЗОЛЯТИНИ АЖРАТИШ ВА БАЪЗИ ХУСУСИЯТЛАРИНИ АНИҚЛАШ. Биология ва экология электрон журнали, 4(2).

12. Fayziev, V. B. (2021). KARTOSHKA X VIRUSI ANTIGENI ASOSIDA TURLI IMMUNOLOGIK USULLAR VA IFA VARIANTLARI SEZGIRLIGINI ANIQLASH. Academic research in educational sciences, 2(1).

13. Хусанов, Т. С., Файзиев, В. Б., Эшбоев, Ф., Давронов, К. С., & Вахабов, А. Х. ВЛИЯНИЕ ВИРУС МОЗАИКИ ЛЮЦЕРНЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА И КАРОТИНОИДОВ В ЛЮЦЕРНЕ. Вестник Прикаспия, 3.

14. Shonazarova, N. I., & Fayziyev, V. B. (2021). KARTOSHKA VIRUSLARI VA ULARGA QARSHI SAMARALI KURASH CHORALARI. Academic research in educational sciences, 2(9), 955-965.

15. Собирова, З. Ш., & Файзиев, В. Б. (2021). СИМПТОМАЛНЫЙ АНАЛИЗ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ КУКУРУЗЫ. Academic research in educational sciences, 2(Special Issue 2).