

давлению роста. Это может быть вследствие того, что корни находятся в более близком контакте с соляным раствором по сравнению со стеблями.

Наибольшие различия наблюдаются в массе растений. Это свидетельствует о том, что у растений, обработанных суспензией *E.coli* (pACC8), наблюдается не только большая длина стебля и корня, но и лучшее развитие по сравнению с остальными растениями.

Полученные результаты показывают, что при выращивании рассады на засоленной почве, обработанной суспензией бактерий *E.coli* (pACC8), продуцирующие ACC дезаминазу, степень подавления роста была уменьшена, и растения, обработанные бактериальной суспензией *E.coli* (pACC8), имели большую массу, чем остальные растения.

Литература

1. Stearns J. C., Glick B. R. Transgenic plants with altered ethylene biosynthesis or perception // *Biotechnol. Adv.*– 2003.– V.21.– P.193–210.
2. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение.– М.: Мир, 2002.
3. Hontzeas N., Saleh S. S., Glick B. R. Changes in gene expression in canola roots induced by ACC-deaminase-containing plant growth promoting bacteria // *Mol. Plant Microbe Interact.*– 2004.– V.17(8). – P.865–871.
4. Patten C. L., Glick B. R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid // *Can. J. Microbiol.*– 1996.– V.42.– P.207–220
5. Hallman, J., Quadt-Hallman A., Mahafee W. F., J. W. Kloepper J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops // *Can. J. Microbiol.*– 1997.– V.43.– P.895–914.
6. Mayak S., Tirosh T., Glick B.R. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress // *Plant Physiology and Biochemistry.*– 2004.– V.42. I.6.– P.565–572

МЕХАНИЗМ ПЕРОКСИДАЗНОГО ОКИСЛЕНИЯ СИЛИМАРИНА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ОКИСЛЕНИЕ ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА

А.С. Щекатихина, Т.А. Кукулянская, В.П. Курченко

*Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
panny82@mail.ru*

Фенольные соединения, поступающие в организм, подвергаясь метаболизму, превращаются в высокореакционные формы, которые способны инициировать свободнорадикальные окислительные процессы. Одним из возможных путей метаболизма различных фенолов является пероксидазное окисление [1]. Пероксидаза окисляет фенол до феноксильного радикала, который, в свою очередь, окисляет НАДН (НАДФН), что приводит к активации кислорода.

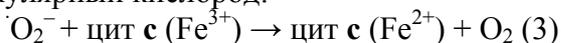
Крайне разнообразной по своим свойствам и биологической активности группой фенолов являются флавоноиды, и в частности, флаволигнаны. Наиболее вероятным, на наш взгляд, механизмом пероксидазного окисления флаволигнанов (Фл) является следующий: система пероксидаза/ H_2O_2 катализирует одноэлектронное окисление флаволигнанов. Продукты окисления способны окислять НАДН (НАДФН) до НАД (НАДФ):



Образующийся НАД (НАДФ) способен восстанавливать молекулярный кислород до супероксиданион радикала:



В свою очередь, образовавшийся супероксиданион радикал, восстанавливает цитохром с (Fe^{3+}) и превращается в молекулярный кислород:



Нами было изучено пероксидазное окисление двух флаволигнанов: силимарина силибининового типа (флавоноида, состоящего в основном из силибинина с небольшим содержа-

нием изосилибинина, дигидросилибинина, силидианина и силикристина) и чистого силибинина в присутствии одного из двух восстановителей НАДН или НАДФН, а также без них. За протеканием реакции наблюдали: во-первых, по окислению НАДН или НАДФН, которое сопровождалось уменьшением оптической плотности при длине волны 340 нм, во-вторых, по окислению флаволигнана, которое сопровождалось уменьшением оптической плотности при длине волны 325 нм, в-третьих, по ингибированию СОД генерации супероксиданион радикала, в-четвертых, по восстановлению цитохрома с, которое сопровождалось увеличением оптической плотности при длине волны 550 нм. В качестве доноров электрона нами были выбраны НАДН и НАДФН, поскольку они находятся в клетке постоянно и вероятность вовлечения этих соединений в различные процессы клетки весьма высока, в частности в процесс пероксидазного окисления различных антиоксидантов, которыми являются флавоноиды.

Нами было установлено, что в процессе пероксидазного окисления флаволигнанов в присутствии НАДН происходит генерация супероксиданион радикала, о чем свидетельствует полное ингибирование супероксиддисмутазой восстановления цитохрома с. Причем, восстановление цитохрома с в реакции пероксидазного окисления силимарина происходит с большей интенсивностью, чем в процессе окисления силибинина. На основании полученных данных о зависимости начальной скорости реакции от концентрации субстратов и H_2O_2 были определены кинетические константы пероксидазного окисления флаволигнанов [2], которые приведены в таблице.

Таблица

Кинетические параметры пероксидазного окисления флаволигнанов

Вариант	пероксид водорода				субстрат			
	$V_{max}, 10^{-6}$ моль/с	$K_m, 10^{-5}$ моль/л	$K_{kat},$ c^{-1}	$K_{kat}/K_m, 10^7$ моль $^{-1}c^{-1}$	$V_{max}, 10^{-6}$ моль/с	$K_m, 10^{-5}$ моль/л	$K_{kat},$ c^{-1}	$K_{kat}/K_m, 10^7$ моль $^{-1}c^{-1}$
СМ* + НАДН	1,82	2,5	364	1,456	1,493	2,17	291	1,34
СБ* + НАДН	2	2,5	400	1,6	1,6	2	320	1,6
СМ	–	–	–	–	2	6,67	400	0,06
СМ + НАДФН	2,27	2,82	454	1,6	2,33	8,7	466	0,54

* СМ – силимарин, СБ – силибинин

Нами также было изучено влияние флаволигнанов на процесс пероксидазного окисления аминобифенилов на примере 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБД). Аминобифенилы подвергаются пероксидазному окислению, которое сопровождается образованием катионрадикалов, дииминов и диимин-монокатионов [3]. Наименьшей канцерогенной и мутагенной активностью в ряду аминобифенилов обладает ТМБД.

В присутствии силимарина в системе пероксидазного окисления ТМБД происходит значительное уменьшение начальной скорости. Это, вероятно, объясняется тем, что первым начинает окисляться силимарин, тем самым, приводя к ингибированию окислительного процесса.

При всех концентрациях силимарина в реакционной смеси зависимость *начальной скорости от концентрации аминобифенила* описывается уравнением Михаэлиса-Ментен и ингибирование окисления ТМБД в присутствии силимарина носит выраженный неконкурент-

ный характер. Константа ингибирования пероксидазного окисления ТМБ силимарином K_i составляет $0,45 \times 10^{-6}$ М.

Таким образом, нами было показано, что процесс пероксидазного окисления флаволигнанов может протекать как в отсутствии восстановителя (НАДН или НАДФН), так и в присутствии. Причем, следует отметить, что в присутствии НАДН происходит уменьшение константы Михаэлиса почти в 3 раза, а при добавлении НАДФН – увеличение в 1,3 раза. Это свидетельствует о том, что, по-видимому, НАДН в данных условиях выступает ингибитором процесса пероксидазного окисления флаволигнанов, а НАДФН наоборот ускоряет этот процесс. Это утверждение подтверждается величинами каталитических констант: количество каталитических актов в активном центре фермента уменьшается в присутствии НАДН в 1,4 раза, а в присутствии НАДФН – увеличивается в 1,17 раза. При совместном окислении с ТМБД, силимарин, являясь медленно окисляемым субстратом, подвергается активации [1] и эффективно ингибирует пероксидазное окисление аминобифенила.

Литература

1. Рогожин В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов // СПб.: ГИОРД. – 2004. – 240 с.
2. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. Пер. с англ. // М.: Мир. – 1990. – С. 183–203.
3. Курченко В.П., Гавриленко Н.В. и др. Роль пероксидазного окисления в метаболической активации канцерогенных аминобифенилов // Ксенобиотики и живые системы. – 2000. – С.39–40.

ЭЛЕКТРОАЛЬГОЛОГИЧЕСКАЯ ОПЕРАТИВНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ВОДНОЙ СРЕДЫ

В.М. Юрин, А.П. Кудряшов, А.И. Соколик, И.И. Смолич, Д.А. Ониани*

*Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
kudrant@mail.ru*

**Тбилисский государственный университет, г. Тбилиси, Грузия
joniani2002@yahoo.com*

Ежегодно в мире синтезируется десятки тысяч новых химических соединений. К этому следует добавить трудно поддающиеся учету, но наверняка очень многочисленные новые побочные продукты органического синтеза, пищевой промышленности и т.д. Многие из этих веществ являются ксенобиотиками.

Очевидно, что выполнение химического анализа, который обеспечил бы оперативную информацию о концентрациях в испытываемом образце всех соединений, перечисленных в таблицах предельно-допустимых концентраций (ПДК) совершенно немыслимо. Можно не сомневаться в том, что и при наличии данных о концентрации всех без исключения загрязнителей (и соответствующих величин ПДК) удалось бы правильно оценить степень опасности загрязнения. Действие некоторой совокупности различных токсикантов, как правило, не является суммой эффектов составляющих соединений, чаще всего сочетанное влияние проявляется (в форме некоторого негативного эффекта) в концентрациях меньших, чем ПДК – нередко, на многие порядки. Поэтому нередки, например, ситуации, когда контролируемые показатели остаются в пределах ПДК, а в водоеме наблюдается массовая гибель рыбы.

В этой связи любая оценка влияния химических соединений на окружающую среду должна включать биологические параметры.

Различают три основных подхода к применению биологических объектов в системе контроля состояния среды: