

4 У высших позвоночных животных в эмбриогенезе закладываются жаберные щели с жаберными артериями и венами, которые затем зарастают и у взрослого организма отсутствуют. Естественно, что для дышащих легкими животных, жаберные щели не могут иметь приспособительного значения. Объясните, почему тогда отбором из поколения в поколение сохраняется этот признак у эмбрионов?

Время на подготовку не даётся. Учитель опрашивает самых сильных учеников. Потом они помогают ему принять зачёт. Каждый ученик получает оценочный лист, в котором выставляются баллы за каждое задание. Затем учитель ставит итоговую оценку. Ученики-помощники проверяют у товарищей выполнение заданий № 1 и 2, выставляют баллы в оценочные листы. Учитель проверяет задания повышенной сложности № 3 и 4.

Как видно, особенностью содержания урока в старшей школе является динамика от переходных довузовских форм к преобладанию форм занятий вузовского типа. Методы обучения являются проблемно-рефлексивными, эвристическими, активными. На уроках обобщения и систематизации знаний создаются возможности для творческого применения знаний, повторения и развития понятий, осмысления и синтеза отдельных фактических явлений на основе ведущих идей. Обобщение подразумевает движение к более высокому, более общему или абстрактному уровню информации. Знания и умения только тогда являются действительным аппаратом мышления, когда в сознании учащихся они организованы в системы взаимосвязанных понятий.

#### Литература

1. Аверьянов А.Н. Системное познание мира: Методол. проблемы. – М.: Поплитиздат, 1985. – 263 с.
2. Арбузова Е.Н. Элементы вузовской методики в профильном обучении биологии //Биология в школе – 2006. – № 2 – 15-19 с.
3. Верзилин Н.М., Корсунская В.М. Общая методика преподавания биологии. Учебник для студентов биол. фак пед. ин-тов. – М.: Просвещение, 1972 – 368 с.
4. Ги Лефрансуа. Прикладная педагогическая психология. – СПб.: прайм-ЕВРО-ЗНАК, 2005. – 416 с.
5. Кашлев С.С. Технология интерактивного обучения. – Мн.: Белорусский верасень, 2005 – 196 с.
6. Методика обучения ботанике. /Под ред. Н.В.Падалко и В.Н.Федоровой. М.: Просвещение, 1973 – 368 с.
7. Мягкова А.Н., Комиссаров Б.Д. Методика обучения общей биологии: Пособие для учителя – 3-е изд., перераб. – М.: Просвещение, 1985. – 287 с.
8. Общая методика обучения биологии: Учеб. пособие для студ. пед. вузов /И.Н. Пономарева, В. П. Соломин, Г.Д. Сидельникова; Под ред. И.Н. Пономаревой. – М.: Академия, 2003. – 272 с.
9. Основы психологии и педагогики: Учеб. Пособие /Н.А. Березовин, В.Т. Челиков, М.И. Чеховских. – Мн.: Новое знание, 2004. – 336 с.
10. Педагогические основы самостоятельной работы студентов: пособие для преподавателей и студентов /Под общ. ред. О.Л. Жук. – Мн.: РИВШ, 2005 – 112 с.
11. Психология в работе учителя: в 2 кн. /Б.Ц. Бадмаев. – М.: ВЛАДОС, 2004. – Кн. 1: Практическое пособие по теории развития, обучения и воспитания. – 233 с.
12. Рысьева Т.Г. Дидактические игры и возможности их применения при изучении биологии и экологии в школе. – Ижевск: Удмуртский университет, 2001. – 160 с.
13. Усова А.В. Формирование у школьников научных понятий в процессе обучения. М. Педагогика, 1986. – 176 с.
14. Харламов И. Ф. Педагогика: Учебник 5-е изд., перераб. и доп. – Мн.: Унверстэцкае, 1998. – 560 с.
15. Химия и экология. 8-11 классы: Материалы для проведения учебной и внеурочной работы по экологическому воспитанию /Сост. Г.А. Фадеева. – Волгоград: Учитель, 2005. – 118 с.
16. Чернобыльская Г.М. Методика обучения химии в средней школе: Учеб. для студ. высш. учеб. заведений. – М.: ВЛАДОС, 2000. – 336 с.
17. Экология, учитель, ученик учебно-методическое пособие для учителей /А.Р. Борисевич, Т.Г. Каленникова; под ред. Т.Г. Каленниковой. – Мн.: ИВЦ Минфина, 2006. – 175 с.
18. Юный эколог /сост. Т.е. Заводова. – Мн.: Красико-Принт, 2006 – 128 с.
19. <http://ezr.ru/1/54/464.htm>
20. <http://www.5-ka.ru/files/743.html>

*Н. А Шугалай, Ж. Э. Мазец, Е. В. Спиридович*

## СКРИНИНГ ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА ПАЛЬМОВЫХ УНИКАЛЬНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЦЭС НАН БЕЛАРУСИ

Пероксидаза (КФ 1.11.1.7 донор:  $H_2O_2$ -оксидоредуктаза) – один из наиболее распространенных растительных ферментов [1, 2, 3, 13]. По своей природе фермент является гем-содержащим гликопротеидом. Основная функция пероксидазы – катализировать окисление

химических соединений за счет кислорода пероксида водорода с образованием промежуточных комплексов, обладающих различными спектральными характеристиками. К субстратам окисляемым пероксидазой в присутствии пероксида водорода, можно отнести большинство фенолов (пирокатехин, пирагаллол, гидрохинон, резорцин, гваякол), а также бензидин, анилин, *n*-толуидин, ароматические кислоты (бензойную, салициловую, галловую), аскорбиновую кислоту, нитриты и ряд других соединений. Пероксидаза обладает не только пероксидазными, но и оксидазными свойствами, катализируя окисление целого ряда соединений за счет неактивированного молекулярного кислорода. Оксидазными субстратами пероксидазы могут быть гидро-, нафтохиноны, индолилуксусная кислота, НАДН, НАДФН, флороглюцин, диоксифумаровая кислота, глутатион и др. [1, 5, 17].

Пероксидаза относится к числу ферментов, для которых доказано наличие множества различных форм. Изоферменты пероксидазы растений различаются по степени предпочтения к субстратам, структуре, оптимальным условиям, необходимым для проявления максимальной активности [1, 2, 4].

Наличие большого числа изоферментов, разнообразие механизмов действия фермента, способность катализировать реакции пероксидазного и оксидазного окисления субстратов обуславливают способность пероксидазы выполнять самые разнообразные функции в живых организмах [1, 2, 5].

Пероксидаза – один из ключевых ферментов, контролирующих рост растений, их дифференциацию и развитие. Этот фермент участвует в формировании, реологии и лигнификации клеточных стенок, биосинтезе этилена, метаболизме индолил-3-уксусной кислоты дыхания растений, защите тканей от поражения и инфекции патогенными микроорганизмами [1, 4, 13, 17].

В настоящее время пероксидаза нашла свое практическое использование. Наиболее широкое применение пероксидаза получила в биоаналитических методах – иммуноферментном анализе как соединившая, маркирующее молекулы антител и антигенов, и электрохимических биосенсорах, при конструировании ферментных электродов. Этот энзим может быть также использован для удаления из промышленных вод ароматических аминов и фенолов, включая хлорзамещенные фенолы, для обесцвечивания промышленных красителей в текстильной и бумажной промышленности, в тонком органическом синтезе низко- и высокомолекулярных соединений и др. Кроме того, пероксидазы играют важную роль в процессе приготовления и хранения многих пищевых продуктов [5 - 8, 12, 17].

Наиболее изученной, а вследствие этого и наиболее применяемой является пероксидаза, выделяемая из корней хрена (*Ammoracia rusticana*) [1, 5, 17]. Однако необходимость иметь пероксидазы с различной субстратной специфичностью и более высокой термо- и pH-стабильностью стимулировала поиск и изучение новых пероксидаз растений и грибов. Появились работы, посвященные выделению и исследованию свойств пероксидаз сои, табака, арахиса, люцерны, *Arthromyces ramosus* и др. [7].

При скрининге тропических растений было обнаружено, что листья некоторых видов пальм содержат высокий уровень пероксидазной активности. При этом уровень пероксидазной активности не зависит от возраста пальм и остается неизменным в течение всего годового цикла. Таким образом, пероксидаза пальмы является конструктивным ферментом для этого вида растений [6, 15].

Показано, что пероксидазы пальм обладают уникально высокой стабильностью при кислотных и щелочных условиях и при повышенных температурах. Более того, эти ферменты по сравнению с другими пероксидазами более стабильны в отношении пероксида водорода. Благодаря их высокой стабильности пероксидазы пальм были успешно применены при разработке новых биоаналитических тестов, конструировании биосенсоров с улучшенными характеристиками и синтезе полимеров [9, 11, 14].

В связи с этим целью настоящей работы является определение пероксидазной активности и изучение отдельных биохимических характеристик пероксидаз у представителей сем Пальмовых уникальной коллекции ЦБС НАН Беларуси.

**Научная новизна и значимость работы.** Впервые предпринята попытка исследовать пероксидазную активность пальм уникальной коллекции ЦБС НАН Беларуси с целью выяв-

ления возможности практического использования пероксидаз, выделенных из данных растений.

**Методы исследования.** Crude-экстракты получали путем измельчения мелко нарезанных листьев в гомогенизаторе марки MPW-302 (MECHANICA PRECYZYNA, Польша). Для экстракции использовали 10 мМ фосфатный буфер, pH 7,0. Соотношение массы навески к объему буфера для всех образцов было одинаковым (1:6,7). Гомогенаты отжимали и центрифугировали при 8000 об/мин. и температуре 0 – 4 °С в течение 10 мин. Полученную после центрифугирования надосадочную жидкость использовали для определения пероксидазной активности и концентрации белка. Определение проводили по реакции, предложенной Триндером [16]. В качестве субстрата при определении пероксидазной активности использовали смесь фенола с 4-аминоантипирином со следующей концентрацией компонентов в реакционной смеси: фенол – 80,42 ммоль/л, 4-ААП – 1,148 ммоль/л, пероксид водорода – 0,85 ммоль/л, и коэффициентом молярной экстинкции окрашенного продукта реакции при  $\lambda = 510$  нм равным 6,58 ммоль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup> и длине оптического пути 1 см. Концентрацию белка в образцах определяли по методу Брэдфорд [10]. Все измерения проводились на спектрофотометре SOLAR PV 1251С (Беларусь, Минск) при 37 °С.

**Результаты и их обсуждение.** Исследования проводились на базе отдела биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси. Всего было исследовано 26 видов пальм. Результаты определения активности пероксидазы и содержания белка в экстрактах, полученных из листьев исследуемых растений, представлены в таблице 1.

В ходе исследований установлено, что листья исследуемых представителей пальмовых сильно различаются по уровню пероксидазной активности. Наибольшая активность пероксидазы (Е/г сырья) выявлена в листьях *Trachycarpus fortunei*, *Trachycarpus excelsa*, *Canota cereus*, *Ptychosperma elegans*, *Butia capitata*, а наименьшая – в листьях *Washingtonia filifera*. *Howea forsteriana*, представителей рода *Phoenix*. Отмечаются заметные различия и в содержании белка в навеске исследуемых образцов. Так, по количеству белка лидировали, в основном, виды с наибольшей пероксидазной активностью (*Trachycarpus fortunei*, *Trachycarpus excelsa*, *Canota cereus*, *Ptychosperma elegans*), а у видов с наименьшей пероксидазной активностью (*Washingtonia filifera*, *Howea forsteriana*, *Phoenix canariensis*) содержание белка было минимальным. Таким образом, для этих видов можно говорить о наличии положительной корреляции между уровнем пероксидазной активности и концентрацией белка. Вследствие этого значения удельной активности пероксидазы (Е/мг белка) для исследуемых представителей варьируют в значительно меньшей степени по сравнению со значениями пероксидазной активности в пересчете на единицу массы сырья (рис. 1). Исключение составляют *Chamaedorea oblongata* и *Livistona chinensis*, которые на фоне высокой пероксидазной активности отличаются весьма низким содержанием белка, а также *Chamaedorea seckendorffii* и *Phoenix dactylifera*, для которых выявлено относительно высокое содержание белка и низкий уровень пероксидазной активности (табл. 1).

Кроме того, выявлены виды (*Trachycarpus fortunei*, *Chamaedorea elegans*, *Chamaedorea seckendorffii*), которые имели примерно равное количество белка в навеске, но активность пероксидазы у этих представителей различалась в несколько раз. Следует отметить, что в пределах одного рода виды некоторых пальм (*Trachycarpus fortunei*, *Trachycarpus excelsa*) имели практически одинаковые значения как пероксидазной активности, так и концентрации белка. В то время как виды других родов по этим показателям довольно сильно отличались между собой. Так, *Washingtonia filifera* и *Washingtonia robusta* резко различаются по активности пероксидазы и по количеству белка, но в то же время удельная активность пероксидазы у них практически одинакова. Виды в пределах родов *Livistona*, *Phoenix* и, особенно, *Chamaedorea* отличаются также и по удельной активности пероксидазы. Отсюда можно заключить, что уровень пероксидазной активности является высоко видоспецифичным признаком для каждого вида пальм.

В настоящей работе, как было отмечено выше, экстракцию пероксидаз проводили в одинаковых условиях. Однако, принимая во внимание выявленные у исследуемых растений различия по уровню пероксидазной активности и концентрации белка, при дальнейших исследованиях целесообразным представляется подбор оптимальных условий экстрагирования для каждого вида растений в отдельности.

Таблица 1. Активность пероксидазы у различных представителей семейства Пальмовых

Представитель	Активность пероксидазы, Е/г сырья	Содержание белка, мг/г сырья	Удельная активность пероксидазы, Е/мг белка
<i>Trachycarpus fortunei</i>	26,782 + 1,817	6,149 + 0,702	4,356
<i>Trachycarpus excelsa</i>	22,081 + 0,937	6,045 + 0,481	3,653
<i>Washingtonia filifera</i>	0,770 + 0,102	0,178 + 0,017	4,326
<i>Washingtonia robusta</i>	4,989 + 0,124	1,176 + 0,056	4,242
<i>Sabal palmetto</i>	7,554 + 0,615	2,307 + 0,178	3,274
<i>Chamaedorea elegans</i>	8,358 + 0,328	6,518 + 0,397	1,282
<i>Chamaedorea concolor</i>	4,949 + 0,313	6,229 + 0,276	0,795
<i>Chamaedorea oblongata</i>	10,586 + 0,450	0,447 + 0,034	23,682
<i>Caryota cereus</i>	12,639 + 0,965	7,649 + 0,722	1,652
<i>Rhapis excelsa</i>	1,610 + 0,081	0,983 + 0,067	1,638
<i>Livistona chinensis</i>	3,800 + 0,096	0,572 + 0,057	6,643
<i>Livistona australis</i>	4,248 + 0,273	2,902 + 0,074	1,464
<i>Livistona decipiens</i>	3,584 + 0,367	3,146 + 0,084	1,139
<i>Archontophoenix alexandrae</i>	6,405 + 0,326	2,867 + 0,082	2,234
<i>Butia capitata</i>	10,255 + 0,409	3,767 + 0,370	2,722
<i>Ptychosperma elegans</i>	12,575 + 0,864	4,636 + 0,288	2,772
<i>Phoenix reclinata</i>	0,838 + 0,054	0,638 + 0,059	1,313
<i>Phoenix sylvestris</i>	1,807 + 0,039	0,649 + 0,035	2,784
<i>Phoenix dactylifera</i>	0,858 + 0,089	2,174 + 0,048	0,395
<i>Phoenix roebelenii</i>	3,793 + 0,210	1,859 + 0,075	2,040
<i>Phoenix canariensis</i>	0,502 + 0,018	0,532 + 0,054	0,944
<i>Coccothrinax argentea</i>	5,184 + 0,096	3,151 + 0,199	1,645
<i>Trithrinax brasiliensis</i>	2,623 + 0,232	1,925 + 0,099	1,363
<i>Chamaerops humilis</i>	3,767 + 0,102	1,102 + 0,091	3,418
<i>Howea forsteriana</i>	0,976 + 0,040	0,287 + 0,025	3,4
<i>Erythea armata</i>	2,058 + 0,194	1,473 + 0,052	1,397

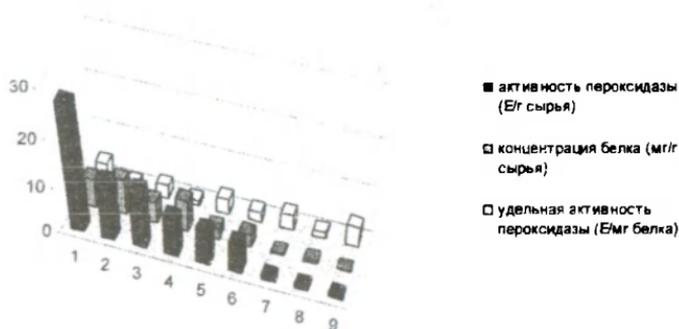


Рис. 1. Скрининг пероксидазной активности у представителей сем. Пальмовых.

1 - *Trachycarpus fortunei*; 2 - *Caryota cereus*; 3 - *Ptychosperma elegans*; 4 - *Chamaedorea elegans*; 5 - *Sabal palmetto*; 6 - *Archontophoenix alexandrae*; 7 - *Howea forsteriana*; 8 - *Phoenix reclinata*; 9 - *Washingtonia filifera*

Таким образом, в результате скрининга пероксидазной активности среди представителей семейства Пальмовых уникальной коллекции ЦБС НАН Беларуси были выявлены виды (*Trachycarpus fortunei*, *Trachycarpus excelsa*, *Caryota cereus*, *Ptychosperma elegans*, *Butia*

*capitata Chamaedorea oblongata*) отличающиеся высокой активностью фермента пероксидазы. Дальнейшие исследования будут направлены на определение их стабильности и субстратной специфичности, что является актуальным для их практического использования в аналитических исследованиях и промышленных процессах

#### Литература

1. Андреева В. А. Фермент пероксидаза: Участие в защитном механизме растений – М. 1988
2. Газарян И. Г., Улюров И. В., Чубарь Т. А., Федчина В. А., Мареева Е. А., Лагоминини Л. М. Влияние pH на стабильность анионной пероксидазы табака и ее взаимодействие с перекисью водорода // Биохимия. – 1998. – Т. 63, вып. 5. – С. 708–715.
3. Кунаева Р. М. Гидролитические и окислительные ферменты обмена фенольных соединений растений – Алма-Ата, 1986
4. Максимов И. В., Черепанова Е. А. Про-антиоксидантная система и устойчивость растений к патогенам. // Успехи современной биологии. – 2006. - №3. – Т. 126. – С. 250 – 261.
5. Рогожин В. В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. – СПб, 2004.
6. Сахаров И. Ю. Пероксидазы пальм. // Биохимия. – 2004. - №8. – Т. 69. – С. 1013 – 1020.
7. Сахаров И. Ю., Веса Бланко М. К., Сахарова И. В. Субстратная специфичность пероксидазы африканской масличной пальмы. // Биохимия. – 2002. - №9. – Т. 67. – С. 1259 – 1264.
8. Abelskov A. K., Smith A. T., Rasmussen Ch. B., Dunford H. B., Welinder K. G. pH Dependence and structural Interpretation of the Reactions of *Coptinus cinereus* Peroxidase with Hydrogen Peroxide, Ferulic Acid and 2,2'-Azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) // Biochemistry. – 1997. – Vol. 36. - №31. – P. 9453 – 9463.
9. Alpeeva I. S., Niculescu-Nistor M., Castillo Leon J., Csoregi E., Sakharov I. Yu. Palm tree peroxidase-based biosensor with unique characteristics for hydrogen peroxide monitoring. // Biosensors and Bioelectronics. – 2005. – Vol. 21. - №5. – P. 742 – 748
10. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. // *Annal. Biochem.* – 1976. - Vol. 72. – P. 248 – 254.
11. Deepa S. S., Arumughan C. Purification and characterization of soluble peroxidase from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) leaf. // *Phytochemistry*. – 2002. – Vol. 61. – P. 503 – 511.
12. Gaspar S., Popescu I. C., Gazaryan I. G., Bautista A. G., Sakharov I. Yu., Mattasson B., Csoregi E. Biosensors based on novel plant peroxidases: a comparative study. // *Electrochimica Acta*. – 2000. – Vol. 46. - №2 – 3. – P. 255 – 264.
13. Passardi F., Longet D., Penel C., Dunand Ch. The class III peroxidase multigenic family in rice and its evolution in land plants // *Phytochemistry*. – 2004. – Vol. 65. – P. 1879 – 1893.
14. Sakharov I. Yu., Sakharova I. V. Extremely high stability of African oil palm tree peroxidase. *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2002. – Vol. 1598. - №1-2. – P. 108 – 114.
15. Sakharov I. Yu., Vesga B. M. K., Galaev I. Yu., Sakharova I. V., Pletjushkina. Peroxidase from leaves of royal palm tree *Roystonea regia*: purification and some properties. // *Plant Science*. – 2001. – Vol. 161. - №5. – P. 853 – 860.
16. Trinder P. Determination of Glucose in Blood using Glucose Oxidase with an Alternative Oxygen Acceptor. // *Ann. Clin. Biochem.* – 1966. – Vol. 24. - №6.
17. Veitch N. C. Horseradish peroxidase: A modern view of a classic enzyme. // *Phytochemistry*. – 2004. – Vol. 65. - №3. – P. 249 – 259.

Н. И. Ясаева, Ю. П. Суярс

### АЦЭНКА ПРЫРОДНА-ЭКАЛАПЧНАГА ПАТЭНЦЫЯЛУ ТЭРЫТОРЫ

Прыродна-экалагічны патэнцыял (ПЭП) тэрыторыі ўключае у свой склад ацэнку прыродных умоў, якая забяспечвае прыродна-тэрытарыяльнаму комплексу магчымасць выконваць важнейшыя біясферныя функцыі: асяроддзефарміруючаю і рэсурсаўзнаўляючаю.

Асяроддзефарміруючая функцыя біясферы фарміруецца жывым рэчывам з удзелам усё ўзрастаючай функцыі тэхнагенэзу, прыноснага грамадствам [4]. Гэтая функцыя ў разрэзе прыродных кампанентаў аглядаецца ў выглядзе прадметных уласцівасцей глебафарміруючага, вальгэзабязбавяючага, ландшафтна-біялагічнага і матэрыяліюючага, асяроддзеачышчальнага і рэсурснага.

Матэрыяльную аснову прыродна-экалагічнага патэнцыялу складаюць прыродныя кампаненты тэрыторыі і іх прасторава-структурная арганізацыя. У склад гэтых кампанентаў ўключаецца у першаю чаргу ахоўваемыя тэрыторыі, а таксама прыродныя ландшафты, якія валодаюць рэпрадуктыўнай здольнасцю: лясныя масівы, водныя прасторы, прыродныя кармавыя ўгоддзі, балоты.