

АРГИНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИ ПРОРАСТАНИИ ГОРОХА

Дж. А. ВАРДАНЯН

Изучалась динамика активности аргиназы при прорастании гороха на свету и в темноте в целых растениях, семядолях, проростках и корнях. В зависимости от условий прорастания в динамике аргиназной активности в семядолях, а также в интенсивности ферментативного процесса отмечаются значительные различия.

Растительная аргиназа рассматривается как катаболический фермент, расщепляющий аргинин с целью обеспечения потребностей организма в азоте [2, 6, 8].

Следует отметить, что значительное образование аргинина в семядолях растений, в частности гороха, наблюдается на ранних стадиях прорастания, после чего уровень его быстро падает [4, 5].

При прорастании семян основным путем дальнейшего катаболизма аргинина, образовавшегося под влиянием протеаз, является гидролитическое расщепление его аргиназой. Известно, что в процессе прорастания семян тыквы постепенно повышается активность фермента, причем при прорастании на свету она достигает максимума на 7-й день, а в темноте—на 15-й [9, 10]. В прорастающих семенах *V. faba* отмечается противоположная закономерность—по мере прорастания активность аргиназы понижается [3]. Интересно, что как у тыквы, так и у *V. faba* динамика активности аргиназы и содержание свободного аргинина при прорастании семян находятся в прямой коррелятивной связи.

В настоящей работе приводятся данные о динамике активности аргиназы при прорастании гороха на свету и в темноте.

Материал и методика. Объектом исследования служили семена гороха Рамонский 77. Для анализа использовались целые покоящиеся и прорастающие семена (целые растения, семядоли, ростки и корни).

Семена замачивались в водопроводной воде и оставлялись на ночь, утром переносились в чашки Петри на фильтровальную бумагу. Кроме воды они не получали другого питания. Прорастание семян осуществлялось на свету и в темноте при комнатной температуре 20—23°. Гомогенизация проводилась при 0—4° в стеклянном гомогенизаторе типа Поттера-Элведжема с кварцевым песком в 0,2 М растворе NaCl, pH 7,0. Полученная масса центрифугировалась при 8000 об/мин 20 мин. Надосадочная жидкость использовалась в качестве ферментного препарата

Аргиназная активность определялась методом Ратнер [7] с небольшими изменениями: гомогенат инкубировался при 37° в течение 60 мин в 0,04 М глициновом буфере (pH 9,5) и присутствии L-аргинина (50 мкМ) и $MnCl_2$ (5 мкМ). Реакция останавлива-

лась добавлением 20%-ного ТХУ. После центрифугирования в надосадочной жидкости определялось количество мочевины методом Арчибальда [1]. Активность фермента выражалась в мкМ образовавшейся мочевины на 1 г свежей ткани и сухого веса.

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, экстракты из семян гороха обладают высокой аргиназной активностью, что является дополнительным свидетельством широкой биологической распространенности аргиназы. При прорастании семян на свету и в темноте активность фермента (при пересчете на свежую ткань) в первые два дня резко падает, после чего понижается постепенно, до 1,3 мкМ. Однако при

Таблица 1
Аргиназная активность в целых растениях гороха при прорастании, мкМ/г ткани

Дни прорастания	На свету		В темноте	
	в свежей ткани	в сухой ткани	в свежей ткани	в сухой ткани
В покоящихся семенах	191,9±0,92	206,8±0,90	191,9±0,92	206,8±0,90
2	131,8±0,57	277,5±0,52	131,8±0,77	277,5±0,73
3	116,4±0,65	279,8±0,60	104,3±0,62	263,4±0,60
4	93,3±0,34	244,2±0,32	75,4±0,93	191,4±0,89
5	51,5±0,81	152,8±0,79	81,7±0,44	249,8±0,43
7	43,5±0,32	164,2±0,85	41,8±0,56	160,2±0,68
9	34,9±0,99	184,7±1,02	32,8±0,90	189,6±0,97
11	13,7±0,87	108,7±1,00	25,4±1,25	206,5±1,10
14	1,3±0,71	13,8±0,86	4,1±1,50	42,7±1,35

пересчете на сухой вес выявляется совершенно иная картина. Очевидно, это обусловлено тем, что при прорастании увеличивается содержание воды, что приводит к относительному снижению содержания ферментного белка на 1 г свежей ткани. В первые два дня прорастания на свету активность аргиназы при пересчете на сухой вес заметно повышается, затем постепенно понижается до 9-го дня, после чего резко падает. Почти такая же картина наблюдается в темноте. С третьего дня активность фермента понижается сравнительно медленно, а с 11-го дня падает.

Таким образом, существенных различий в динамике аргиназной активности при прорастании семян гороха в темноте и на свету в целых растениях не отмечалось.

Следующим этапом явилось изучение аргиназной активности в семядолях. Данные показывают (табл. 2), что в семядолях покоящихся семян гороха аргиназная активность высокая (256,8 мкМ). При прорастании как на свету, так и в темноте при пересчете на свежую ткань с первого же дня она резко падает, а в последующие дни снижается постепенно. Лишь на 4-й день прорастания на свету и 7—9-й—в темноте отмечается небольшое повышение ее.

При пересчете на сухой вес наблюдается совершенно иная картина. В первые четыре дня прорастания на свету активность фермента повышается незначительно, после чего постепенно падает, а с 10-го дня вновь повышается, достигая к 14-му дню 407,8 мкМ против 260 мкМ у

Аргиназная активность в семядолях гороха при прорастании, мкМ/г ткани

Дни прорастания	На свету		В темноте	
	в свежей ткани	в сухой ткани	в свежей ткани	в сухой ткани
В покоящихся семядолях	230,3±1,03	256,8±0,89	230,3±1,08	256,8±0,89
2	143,1±1,20	326,0±1,05	143,1±1,20	326,0±1,05
3	126,6±0,79	273,4±0,98	116,9±1,09	250,3±0,89
4	145,2±1,10	339,2±0,89	116,4±0,79	268,2±1,32
5	118,7±0,99	287,4±1,06	90,0±0,93	213,2±0,99
7	95,3±1,32	241,3±0,85	128,7±1,07	336,0±0,85
9	75,4±0,91	202,2±1,09	134,1±1,21	675,3±1,20
11	38,2±0,65	200,0±1,12	97,0±0,87	340,3±1,43
14	27,1±0,45	407,8±1,78	53,6±0,56	454,2±2,01

покоящихся семян. В темноте в первые два дня прорастания она повышается незначительно, затем снижается, а с 6-го дня резко повышается, к 9-му дню достигая максимального уровня (675,3 мкМ). В последующие дни резко падает и к 14-му дню вновь повышается.

Таким образом, условия прорастания семян (на свету или в темноте) влияют на динамику и интенсивность ферментативного процесса в семядолях.

Исследования показали, что в проростках и корнях аргиназная активность сравнительно низкая (табл. 3), причем как в пересчете на 1 г

Таблица 3

Аргиназная активность в проростках и корнях, мкМ/г свежей ткани

Дни прорастания	На свету		В темноте	
	в проростках	в корнях	в проростках	в корнях
4	50,4±0,78	18,2±0,53	71,5±0,89	21,6±0,67
5	14,0±0,53	14,8±0,67	19,1±0,76	18,5±0,98
7	3,8±0,23	10,4±0,54	13,3±0,23	13,1±0,23
9	5,8±0,34	8,4±0,12	12,2±0,56	8,4±0,56
11	4,9±0,54	6,8±0,23	8,0±0,34	5,8±0,67
14	1,6±0,23	1,8±0,34	4,2±0,56	2,5±0,45

свежей ткани, так и на 1 г сухого веса динамика ее одинакова: в проростках при прорастании на свету она составляла 50,4, в темноте — 71,5 мкМ, в последующие дни прорастания активность фермента резко падала, к 14-му дню составляя 1,6 и 4,2 мкМ соответственно; в корнях отмечалась аналогичная картина. Не наблюдалось разницы и в интенсивности процесса.

Суммируя полученные данные, следует подчеркнуть, что в процессе прорастания семян гороха аргиназная активность падает во всех изученных органах, и в этом отношении изучаемый нами объект близок к V. faba [3]. Лишь в семядолях при выражении активности на сухой вес на-

блюдается повышение ее по мере прорастания. Очевидно, образовавшийся в них при катаболизме белков свободный аргинин индуцирует аргиназу, как это допускалось в отношении прорастающих семян тыквы [10]. Что касается определенных различий, наблюдаемых в динамике аргиназной активности семядолей при прорастании на свету и в темноте, то, очевидно, это является свидетельством влияния условий прорастания на процесс индукции аргиназы.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии и проблемная лаборатория
сравнительной и эволюционной биохимии

Поступило 2 VII 1979 г.

ԱՐԴԻՆԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՂՈՒԻ ՍԵՐՄԵՐՈՒՄ

Զ. Ն. ՎԱՐԴԱՆԻԱՆ

Ուսումնասիրվել է արգինազային ակտիվության դինամիկան ուղուի սերմերի ծլման տարբեր պայմաններում (լույսի և մթության)՝ ամբողջական բույսերում, շաքիլներում, ծիլերում և արմատներում:

Ուղուի սերմերը լույսի և մթության պայմաններում աճեցնելիս, ամբողջական բույսերում արգինազային ակտիվության դինամիկայի էական տարբերություններ չեն նկատվել: Շաքիլներում, ծլման տարբեր պայմաններում (լույսի և մթության) դիտվել են արգինազային ակտիվության դինամիկայի և ֆերմենտային պրոցեսի ինտենսիվության զգալի տարբերություններ: Աճեցման տարբեր պայմաններում ծիլերում և արմատներում նկատվել է միայն ֆերմենտային ակտիվության ինտենսիվության տարբերություններ, մթության պայմաններում արգինազայի ակտիվությունը զգալի բարձր է:

ARGINASE ACTIVITY UNDER PEA GERMINATION

J. A. VARDANIAN

The dynamics of arginase activity under pea germination in daylight, in darkness, in intact plants, cotyledons, shoots and roots has been studied. Under different conditions of germination in the cotyledons significant differences in the dynamics of arginase activity and in the intensity of fermentative process have been observed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 156, 1, 1944.
2. Durzan D. J., Steward E. C. Can. J. Botany, 45, 695, 1966.
3. Jones V. M., Boulter D. New Phytol., 67, 925, 1968.
4. Larson L. A., Becvers H. Plant Physiol., 40, 424, 1965.
5. Lawrence J. M., Grant D. R. Plant Physiol., 38, 561, 1963.
6. Oland K. Physiol. Plantarum., 12, 524, 1959.
7. Ratner S., Pappas A. Arch. Biochem. Biophys., 9, 280, 1960.
8. Reinbathe H., Mothes K. Ann. Rev. Plant Physiol., 13, 123, 1962.
9. Splittstoesser W. E. Phytochemistry, 6, 933, 1967.
10. Splittstoesser W. E. Hort. Sci., 3, 123, 1968.