УДК 581.193

ИЗМЕНЕНИЯ В ФЕРМЕНТАХ ПРИ ПРОРАСТАНИИ И РАЗЛИЧНЫХ ОБРАБОТКАХ ИЗОЛИРОВАННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ ПШЕНИЦЫ

С. Г. ТИРАЦУЯН, Г. А. ПАНОСЯН

В процессе прорастания и под действием оптимальных концентраций гиббереллина, 6-бензиламинопурина и зеленого прочного происходит изменение активности малатдегидрогеназы и пероксидазы изолированных зародышей пшеницы. Гиббереллин и 6-бензиламинопурин стимулируют активность обоих ферментов, тогда как зеленый прочный ингибирует активность малатдегидрогеназы. Актиномицин Д и циклогексимид ингибируют ферментативную активность и вызванные обработками зародышей изменения в изоферментном спектре пероксидазы.

Ключевые слова: ферменты, зародыши пшеницы.

Состав ферментных систем, участвующих в дыхании, является важнейшим показателем жизнеспособности семян. Способность семян к прорастанию коррелирует с активностью дегидрогеназных систем, принимающих непосредственное участие в метаболизме их при прорастании [1, 2]. При прорастании и набухании жизнеспособных семян наиболее быстро активируется малатдегидрогеназа (МДГ) и в ее белковом спектре появляются новые множественные молекулярные формы (ММФ). Отмечена также прямая зависимость между жизнеспособностью семян и активацией некоторых оксидаз, в частности, пероксидазы (ПО) [4]. Этими данными и обусловлен выбор ферментных систем, отражающих метаболическое состояние зародышей пшеницы, для исследования действия гиббереллина, 6-бензиламинопурина и стимулятора роста—красителя зеленого прочного.

Все типы фитогормонов (ФГ) вызывают в чувствительных к их действию растительных объектах существенные изменения в ферментном спектре, подавляя активность одних ферментов и индуцируя или стимулируя другие. ФГ влияют также на изоферментный спектр ферментов [14]. В литературе нет достоверных данных о механизмах действия гиббереллина (ГБ) и 6-бензиламинопурина (БАП) на упомянутые ферментные системы. В связи с этим представлялось интересным исследование влияния ГБ, БАП, а также зеленого прочного (ЗП) на их активность и ММФ [3].

Материал и методика. Объектом исследования были изолированные по методу Джонстона и Штерна [11] зародыши пшеницы сорта Безостая [1]. Жизнеспособность зародышей проверяли проращиванием на питательной среде, содержащей 0,9%-ный агар, 1%-ную глюкозу и 0,01%-ный стрептомицин. В качестве контроля служил раствор, содержащий 5 мМ Трис-HCl, pH 7,4, 20 мМ KCl и 20 мкг/мл сахарозы. Для обработки зародышей использовали 10^{-6} М раствор ГБ, 5.10^{-4}%-ный раствор ЗП. 10^{-4}М раствор актиномицина Д (АД), 2 мг/л раствора БАП, 10 мг/л циклогексимида (ЦГИ) и их различные сочетания. Зародыши проращивали на стерилизованной питательной среде на заранее стерилизованных чашках Петри в термостате при 26° в течение 0—48 ч.

Активность ПО определяли по описанной ранее методике [6], активность МДГ—

по Хоку [9]. Электрофоретическое разделение и проявление ММФ ПО проводили по методам, описанным в литературе [5, 6].

Результаты и обсуждение. В качестве объекта исследования нами были использованы изолированные зародыши пшеницы для исключения опосредованного действия через эндосперм.

В процессе прорастания изолированных зародышей в течение 0—48 ч происходит увеличение общей активности МДГ, связанное с интенсификацией дыхания при прорастании (табл.). Усиление дыхания

Таблица

Активность малатдегидрогеназы при прорастании и обработке изолированных зародышей пшеницы в течение 16 и 48 часов

	Время прорастания 16 ч				48 ч			
	Контроль	ГБ	ЗП	БАП	Контроль	ГБ	ЗП	БАП
Буфер	0,086 ±0,001	0,122 ±0,023	0,065 ±0,007	0,144 ±0,028	0,127 ±0,008	0,398 ±0,088	0,082 ±0,006	0,185 ±0,009
АД	0,059 ±0,004	0,071 ±0,004	0,053 ±0,002	0,115 ±0,002	0,097 ±0,002	0,114 ±0,018	0,072 ±0,004	0,105 ±0,009
ЦГИ	0,057 ±0,004	0,067 ±0,001	— —	0,070 ±0,0 3	0,083 ±0,002	0,086 ±0,015	— —	0,099 ±0,005

является прямым результатом синтеза или активации или как синтеза, так и активации дыхательных ферментов [8]. АД подавляет активность фермента в течение всего периода прорастания. ЦГИ подавляет его активность в той же мере, в какой АД, что свидетельствует о новообразовании ферментного белка МДГ. Результаты наших работ согласуются с литературными данными [13, 15], согласно которым в процессе прорастания семян и на ранних этапах роста проростков изозимы МДГ синтезируются de novo в щитке. Накопление в проростках изоферментов МДГ контролируется не только синтезом, но и скоростью распада изоферментов.

ГБ вызывает повышение активности МДГ. АД и ЦГИ снижают ее до уровня ниже контрольного, подтверждая тем самым, что ГБ активирует МДГ за счет синтеза ферментного белка и соответствующих РНК.

БАП также повышает активность фермента, причем в первые сутки больше, чем на вторые, видимо, в результате того, что цитокинины влияют на содержание ферментного белка в растительной клетке, не только активируя его синтез, но и задерживая распад. АД и ЦГИ практически одинаково подавляют активность МДГ зародышей, обработанных БАП. Это показывает, что основная роль в механизме действия БАП принадлежит активации синтеза РНК.

ЗП ингибирует активность МДГ. Прорастание и обработка зародышей ГБ и ЗП сопровождается также возрастанием активности ПО, которое АД подавляет в течение всего периода роста зародышей. Это показывает, что как при прорастании, так и при обработке зародышей ГБ и ЗП необходимо новообразование белка ПО. Наши данные согла-

суются с литературными, согласно которым прорастание жизнеспособных семян пшеницы происходит путем синтеза новых мультимолекулярных форм белка [14].

Надежным показателем жизнеспособности и различных ростовых процессов в семени является изоферментный состав ПО. Изменения ММФ ПО под воздействием ФГ происходят на уровне генома [7]. Как в процессе прорастания, так и под действием ГБ и ЗП число ММФ ПО увеличивается (рис.). Интересно, что при обработке зародышей и тем

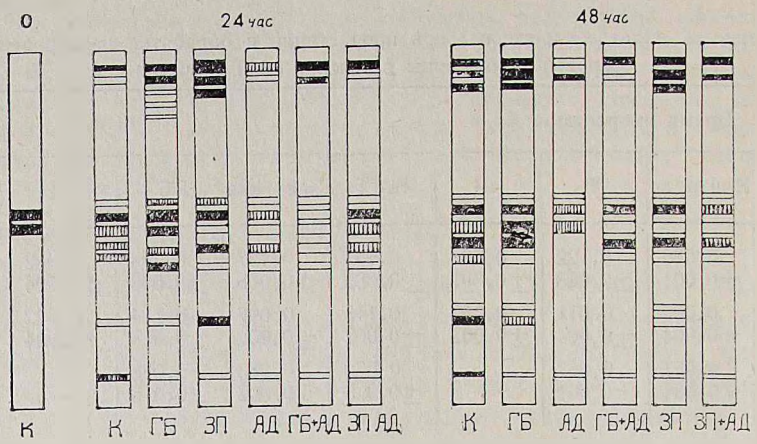

Рис. Электрофореграммы множественных молекулярных форм пероксидазы изолированных зародышей пшеницы: сухих (О), прорастающих в течение 24 и 48 ч, а также обработанных ГБ, ЗП, АД, ГБ+АД, и ЗП+АД одновременно.

и другим биологически активным соединением появляется фракция № 3, которая в контрольных зародышах синтезируется при прорастании в течение 48 ч, т. е. образование ММФ ПО ускоряется. Имеет место также расширение одних и сужение других ферментных полос ПО. Обработка зародышей АД приводит к ослаблению интенсивности окрашивания этих полос. Появление или исчезновение определенных ММФ ПО в течение всего периода роста и развития растений можно объяснить метаболическими требованиями его на той или иной стадии роста от белоксинтезирующего аппарата. Ингибирование актиномицином Д активности ПО и изменение изоферментного состава при прорастании [10] свидетельствуют о de novo синтезе белка ПО после ДНК-зависимой транскрипции РНК. Изозимы ПО обладают также органоспецифичностью. Следовательно, появление в обработанных в течение 24 ч эмбрионах фракций ПО, синтезируемых в контрольных эмбрионах на более поздних стадиях развития, свидетельствует о повышении метаболических требований под влиянием ГБ и ЗП и о более раннем прохождении, по крайней мере, первых фаз роста и набухания.

Таким образом, в процессе прорастания изолированных зародышей пшеницы имеет место увеличение активности малатдегидрогеназы и пероксидазы, обусловленное новообразованием соответствующих ферментных белков. ГБ и БАП повышают уровень активности МДГ,

этот эффект снимается обработкой эмбрионов актиномицином Д и ЦГИ, что свидетельствует о действии указанных гормонов на уровне транскрипции.

Зеленый прочный подавляет активность МДГ в обработанных зародышах, однако повышает активность ПО; это возрастание подавляется АД.

В процессе прорастания имеет место увеличение числа ММФ ПО. Как обработка ГБ, так и ЗП вызывает появление фракций ПО, что у контрольных зародышей происходит на более поздних стадиях развития.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 16.III 1983 г.

ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՑՈՐԵՆԻ ՄԵԿՈՒՍԱՑՎԱԾ ՍԱՂՄԵՐԻ ԾԼՄԱՆ ԵՎ ՏԱՐԲԵՐ ՄՇԱԿՈՒՄՆԵՐԻ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Ս. Գ. ՏԻՐԱՑՈՒՅԱՆ, Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

Ծլման պրոցեսում, ինչպես նաև հորմոնների և կանաչ ամուրի օպտիմալ խտությունների ազդեցության ակն փոփոխվում են ցորենի մեկուսացված սաղմերի մալատդեհիդրոգենազայի և գերօքսիդազայի ակտիվությունները։ Գիբերելինը և 6-բենզիլամինոպուրինը խթանում են ֆերմենտների ակտիվությունները, մինչդեռ կանաչ ամուրն արգելակում է մալատդեհիդրոգենազայի ակտիվությունը։ Ակտինոմիցին Դ-ն և ցիկլոհեքսիմիդը արգելակում են ակտիվությունները և ճնշում սաղմերի մշակման հետևանքով գերօքսիդազայի իզոֆերմենտային սպեկտրում առաջացած փոփոխությունները։

CHANGES OF ENZYMES DURING GERMINATION AND DIFFERENT TREATMENTS OF ISOLATED WHEAT EMBRYOS

S. G. TIRATSUYAN, G. H. PANOSYAN

The activity of isolated wheat embryos malatdehydrogenase and peroxidase undergoes changes in the process of germination and under the influence of optimal concentrations of hormones and fast green. Gibberellin and 6-benzylaminopurin stimulate the activities of enzymes, whereas the fast green inhibits the malatdehydrogenase activity. Actinomycin D and cycloheximide inhibit activities and suppress the changes of peroxidase enzymatic spectrum, caused by the embryos treatment.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Красноок Н. П., Моргунова Е. А., Бухтиярова Э. Т., Вишнякова И. А.* Физиол. раст., *26*, 1, 1979.
2. *Моргунова Е. А., Красноок Н. П., Поварова Р. И., Вишнякова Н. А.* Прикладная биохимия и микробиология, *11*, 5, 1975.

3. *Паносян Г. А., Тамразян Е. Е.,* Биолог. ж. Армении, *24,* 12, 27, 1971.
4. *Рубин Б. А., Ладыгина М. Е.* Энзимология и биология дыхания растений. 70, М., 1966.
5. *Сафонов В. И., Сафонова М. П.* Физиол. раст., *16,* 2, 1969.
6. *Тирацуян С. Г., Вардапетян Р. Р., Паносяна Г. А.* Биолог. ж. Армении, *33,* 11, 1980.
7. *Benito C., Peter de la Veda M.* Theor. and Appl. Genet., *55,* 2, 77, 1979.
8. *Filner P., Wray J. L., Varner G. E.* Science, NY, *165,* 358, 1968.
9. *Hock B.* Planta (Berl), *110,* 329, 1973.
10. *Horvath M. M.* Acta Bot. Acad. Sci. hung, *77,* 32, 3, 1976.
11. *Johnston F. B., Stern H.* Nature (Lond), *179,* 160, 1957.
12. *Kern H.* Biologia Plantarum (Praha), *17,* 4, 309, 1975.
13. *Newton K. J., Schwarrtz D.* Genetics (USA), *95,* 2, 425, 1980.
14. *Singh R., Singh D.* Biochem. Physiol. Pflanzen., *166,* 5, 233, 1974.
15. Yang-Ning Sun BBA, *384,* 2, 293, 1975.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVI, № 7, 1983

УДК 51.001.57—017.1

ПОСТРОЕНИЕ МОДЕЛИ ИММУННОГО ОТВЕТА ПОСЛЕ РЕВАКЦИНАЦИИ К ДИФТЕРИИ И СТОЛБНЯКУ

А. А. ОРДУХАНЯН, Е. В. МАНВЕЛЯН

В работе обосновывается статистическая значимость линейной аппроксимации для построения математической модели, описывающей антитоксический иммунитет к дифтерии и столбняку после ревакцинации.

Ключевые слова: иммунитет, антитоксин, титр, математическая модель.

Модель Готтлиба на сегодняшний день является наиболее общим подходом в моделировании долгосрочного иммунитета против дифтерии и столбняка [4]. Однако, как нами было показано [1, 2], модель не лишена недостатков, которые значительно снижают ее ценность.

В наиболее общем виде модель формулируется следующим образом: иммунный ответ организма, характеризующийся, согласно Готтлибу, отношением $\lg \frac{\text{Titer}}{\text{Pre}}$, есть некая функция внутренних характеристик организма (пол, группа крови и т. д.) и внешних (доза антигена, сезон вакцинации и т. д.). Одной из основных характеристик модели Готтлиба является величина скачка уровня антител после ревакцинации $\lg \frac{\text{Post}}{\text{Pre}}$. Считается, что $\lg \frac{\text{Titer}}{\text{Pre}} \sim \lg \frac{\text{Post}}{\text{Pre}}$, причем пропорциональность иллюстрируется лишь графически. Далее предполагается, что $\lg \frac{\text{Post}}{\text{Pre}}$, есть весьма сложная функция от lg Pre, которую авторы не обосновывают статистически.

Предположим, что действительно $\lg \frac{\text{Post}}{\text{Pre}} = f(\lg \text{Pre})$, но в отличие