

УДК 577:[581.142+633.11

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ОКСИДОРЕДУКТАЗ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ

В.В. РОГОЖИН, Т.Т. КУРИЛЮК, Н.П. ФИЛИППОВА

(Якутская государственная с.-х. академия)

Изучена динамика активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), алкогольдегидрогеназы (АДГ) и пероксидазы (ПР) в различных частях зерен пшеницы сорта Приленская 9 в течение 24 ч набухания. Показано, что в увеличении активности ферментов отмечается индивидуальная периодичность, зависящая от их природы и места локализации. Малые дозы УФ-излучения могут изменять эту периодичность со сдвигом экстремумов на более раннее время. Причем максимальная активность АДГ и пероксидазы эндосперма уменьшается соответственно на 17—30 и 8—27%, щитка — 78—82 и 80—90, зародыша — 75—86 и 70—75%, при снижении активности Г6ФДГ в этих частях зерна всего на 10—25%. При облучении семян отмечено значительное понижение активности ферментов в щитке и зародыше, тогда как в эндосперме она может даже несколько возрасти. После УФ-облучения семян пшеницы отмечается уменьшение активности АДГ и пероксидазы в щитке в 3—7 и 2,5—6 раз, зародыше — в 1,3—1,5 и 3—5 раз. Одной из возможных причин снижения активности ферментов в щитке и зародыше, по-видимому, является увеличение концентрации гидролитических ферментов из поврежденных ультрафиолетом лизосом. Особенно это выражено в структуре щитка. Понижение активности дегидрогеназ и оксидаз в щитке приводит к утрате его функциональной активности, что, возможно, сказывается на его избирательной регуляторной функции и в целом на всхожести семян пшеницы.

Публикуется в порядке обмена опытом.

Покой семян можно рассматривать как необходимое физиологически обусловленное состояние, позволяющее максимально сохранять их жизнеспособность даже в неблагоприятное для функционирования растений время года [14]. При создании благоприятных условий семена прорастают, выходя из состояния покоя. Прорастание семян связано со сложными физиолого-биохимическими изменениями в зародыше, в результате которых покоящийся зародыш превращается в активно растущий и развивающийся организм. Однако молекулярные механизмы этого процесса недостаточно исследованы [4].

Ведущую роль при прорастании семян играют синтез белка и нуклеиновых кислот, активизация которого приводит к продуцированию ферментов, катализирующих различные метаболические процессы. Известно, что в состоянии покоя в семенах проявляется высокая активность ферментов анаэробных процессов, особенно дегидрогеназ [16], а при выходе из этого состояния возрастает активность оксидаз. Вместе с тем динамика активности данных ферментов в процессе набухания и прорастания семян мало изучена.

Для выведения семян из состояния покоя в научной и производственной практике часто используют факторы физического воздействия, в том числе и УФ-излучение. Последнее, как известно, вызывает повреждения в ДНК, выражающиеся в нарушении процессов транскрипции и репликации вследствие образования сво-

бодных радикалов и гидроперекисей азотистых оснований, что приводит к сшивкам с формированием пиримидиновых димеров [28, 33]. В результате обработки семян УФ-лучами нарушается проницаемость мембран клеток [18, 36]. Выявлена положительная корреляция между скоростью УФ-индуцированного разрушения клеток и перекисным фотоокислением липидов в мембране [18]. Показано [34], что фотоокисление лежит в основе обнаруженного ранее [29] нарушения функционирования различных ферментов, связанных с мембраной. причем окисление липидов под действием УФ-облучения протекает по цепному механизму и аналогично автоокислению, где роль облучения сводится к генерации свободных радикалов, инициирующих цепи окисления [20]. Супероксидный ионрадикал, образующийся в УФ-облученной клетке [18], способен вызывать мутации как прокариотических, так и эукариотических клеток [18, 22]. Аналогичным действием могут обладать и другие активные формы кислорода, регулирование активности которых осуществляется с помощью функционально активных веществ, относящихся к группе антиоксидантов [6, 8]. Возникающие свободные радикалы инициируют перекисное окисление липидов (ПОЛ) — процесс, в значительной мере определяющий их токсичность [2]. Свободные радикалы могут оказывать влияние на биосинтез белка и состав функционально активных веществ в клетках живых организмов [27, 32], активизировать процессы проте-

олнза [5, 12], пока еще мало изученные [1].

В процессе набухания в семенах активизируются аэробные метаболические процессы, за интенсивностью которых можно наблюдать по изменению активности пероксидазы. Рост осевых органов семян связан с расходом пластического материала, накапливаемого в результате активизации ферментов анаболических процессов, одним из показателей которой является активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ). Выход из покоя всегда сопровождается ослаблением анаэробных процессов. В этом случае маркерным ферментом является алкогольдегидрогеназа (АДГ). Таким образом, выбранные нами для изучения ферменты служат маркерными энзимами основных анаэробных и аэробных метаболических процессов в покоящихся и прорастающих семенах.

В настоящей работе изучена динамика активностей пероксидазы, АДГ и Г6ФДГ в разных частях зерен пшеницы в процессе их набухания, а также показано влияние УФ-облучения семян на активность этих ферментов при возобновлении ростовой активности зародыша. Высказано предположение о регуляторных механизмах щитка в пусковых процессах прорастания.

Методика

В работе использовали о-фенантролин фирмы «Serva» (Германия), тиобарбитуровую кислоту (ТБК), ос.ч. (Реахим), тритон X-100 — препарат фирмы «Ferak

Berlin» (Западный Берлин), глюкозо-6-фосфат, NAD, NADP — препараты фирмы «Reanal» (Венгрия), 30% водный раствор (ос.ч) перекиси водорода. Этанол очищали перегонкой, о-дianизидин марки ч. — возгонкой в вакууме. В соли были или особо чистые, или дважды перекристаллизованные из бидистиллированной воды.

УФ-облучение семян пшеницы проводили с помощью ртутно-кварцевой лампы БНП02-30-001у3,5 («Спектр-2», Россия), расположенной на расстоянии 25 см от облучаемого объекта. Интенсивность облучения — 30 Вт/м², экспозиция — 5 и 60 мин.

Семена с влажностью 5—6% проращивали на свету при 23°С в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой (10 мл на чашку Петри). Число семян в одной чашке — 100, повторностей в варианте — 4, опытов — 4.

Для биохимических исследований семена размельчали в механическом гомогенизаторе до получения однородной массы. Добавляли бидистиллированную воду в соотношении 1 : 3 (1 г семян на 3 мл воды). Для удаления не полностью разрушенных клеток и ядер гомогенат центрифугировали 10 мин при 7000 г.

За накоплением продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) — малонового диальдегида (МДА) — следили по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой при 532 нм ($\epsilon = 155 \text{ мм}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) [3] с нашими модификациями. К 0,5 мл экстракта последовательно добавляли 0,5 мл 1% раствора

трилона X-100, 0,2 мл 0,6 М раствора HCl и 0,8 мл 0,06 М рабочего раствора ТБК. Смесь нагревали на кипящей водяной бане в течение 10 мин, затем охлаждали при температуре 15°С в течение 30 мин. Для стабилизации окраски добавляли 0,2 мл 5 мМ раствора трилона Б и 5—10 мл 96% этанола. Оптическую плотность измеряли при 532 нм. Контролем служила проба, в которую добавляли эти же растворы, кроме ТБК.

Анализ антиоксидантной активности (АОА) проводили по методике [13]. К 0,2 мл экстракта последовательно добавляли 0,2 мл 0,5% *o*-фенантролина в 96% этаноле и 0,2 мл 0,2% FeCl₃ в 96% этаноле. Затем объем доводили до 3 мл 96% этанолом и выдерживали в темноте 10 мин. Для определения активности антиоксидантов использовали калибровочный график, построенный для дигидрокверцетина.

Активность пероксидазы определяли при 22°С по начальной скорости окисления *o*-дианизидина перекисью водорода в ее присутствии [10]. К 2,1 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера при pH 7,0 добавляли 0,2 мл раствора центрифугата и 0,1 мл 0,43 мМ *o*-дианизидина в 96% этаноле. Реакцию инициировали введением 0,1 мл 16 мМ перекиси водорода. Увеличение поглощения раствора при 460 нм ($\epsilon = 30 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) для продукта окисления *o*-дианизидина после быстрого перемешивания реагентов регистрировали на спектрофотометре. За меру активности фермента принимали количество микромолей *o*-дианизидина, окисленного за 1 мин.

Активность ЛДГ определяли по скорости окисления этанола и образования NADH при 340 нм ($\epsilon = 6,22 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) [9]. К 2,2 мл 0,1 М глицин-NaOH буфера, pH 10 добавляли 0,1 мл 36 мМ раствора NAD и 0,1 мл 0,41 М раствора этанола. Реакцию инициировали введением 0,1 мл раствора гомогената.

Активность Г6ФДГ определяли по следующей методике. В типичном эксперименте в кювету вносили 2,2 мл 0,01 М трис-HCl буфера, 0,1 мл раствора MgCl₂ с исходной концентрацией 0,1 М, 0,1 мл 0,025 М раствора NADP, 0,1 мл 0,05 М раствора глюкозо-6-фосфата. Реакцию инициировали введением 0,1 мл раствора гомогената. За меру активности фермента принимали количество микромолей NADPH, восстановленного за 1 мин в процессе окисления глюкозо-6-фосфата [15].

Все спектральные характеристики продуктов ПОЛ, АО и активность исследованных ферментов определяли на двухлучевом спектрофотометре DMS 100 S фирмы Varian.

Результаты

Из рис. 1 видно, что в течение 24 ч набухания в эндосперме и зародыше семени происходило плавное возрастание активности АОА — соответственно в 3,3 и в 2,7 раза, а в шитке — ее понижение на 22—35% (рис. 1, б), хотя АОА в начале набухания была здесь выше, чем в эндосперме и зародыше, в 12 и 2 раза. Повышенная активность АОА в эндосперме и зародыше обеспечивается возрастанием содержания ан-

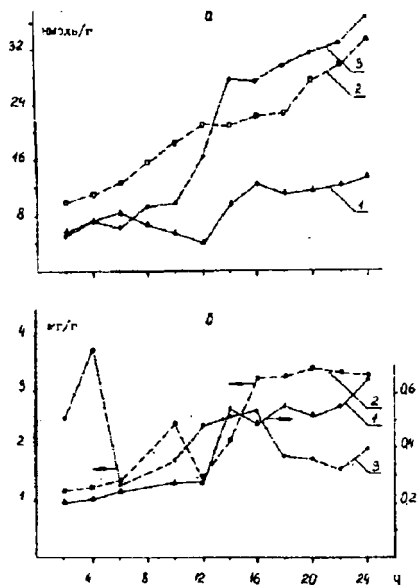


Рис. 1. Динамика наполнения малонового диальдегида (а) и антиоксидантов (б) в эндосперме (1), зародыше (2) и щитке (3) зерен пшеницы сорта Приленская 9 в процессе набухания в дистиллированной воде.

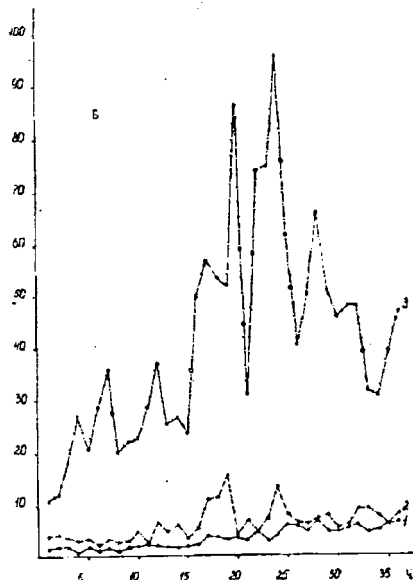


Рис. 2. Динамика активности (мкмоль/мин на 1 г ткани) пероксидазы (А), АДГ (Б) и ГФДГ (В) зерен пшеницы сорта Приленская 9 в процессе набухания.

Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

Активность ферментов (мкмоль/мин на 1 ч сухой ткани) эндосперма зерен пшеницы сортов Приленская 9 и Скороспелка во время 24-часового набухания

Вариант	Г6ФДГ				АДГ				Пероксидаза												
	U_k	U_{min}	U_{max}	n	U_k	U_{min}	U_{max}	n	U_k	U_{min}	U_{max}	n	U_{cp}								
Контроль	0,056	0,047	0,20	4,3	0,102	9-16	1,4	1,04	4,8	4,8	2,38	10-12	6,1	2,0	7,8	3,9	3,84	14			
																			20-24	17-36	33
<i>Приленская 9</i>																					
УФ-облучение 5 мин	0,056	0,05	0,15	3,0	0,096	2-5	1,2	1,0	3,3	3,3	1,80	9-13	5,3	1,2	7,2	6,0	3,16	8			
																			9-24	15-21	12
УФ-облучение (60 мин)	0,06	0,06	0,17	2,8	0,111	3-5	1,87	1,0	4,0	4,0	2,44	5-7	3,4	0,9	5,7	6,3	2,51	12			
																			13-16	18-24	21
																			19-22		
<i>Скороспелка</i>																					
	0,05	0,04	0,15	3,75	0,080	5-12	0,99	0,74	2,4	3,2	1,43	1-3	0,66	0,22	0,6	2,7	0,45	5			
																			13-24	5-13	15
																				15-19	21-24

Примечание. Здесь и в последующих таблицах: U_r — скорость синтеза фермента через 1 ч ле набухания семян; U_{min} и U_{max} — минимальная и максимальная скорости синтеза фермента; N — отгол U_{max} / U_{min} ; U_{cp} — средняя скорость синтеза фермента в течение 24 ч набухания семян; t_{max} — интервал времени повышения активности фермента.

Активности ферментов (мкмоль/мин на 1 г сухой ткани) щитка зерен пшеницы сортов Приленская 9 и Скороспелка во время 24 ч набухания

Вариант	Г6ФДГ					АДГ					Пероксидаза										
	U _x	U _{min}	U _{max}	n	U _{cp}	t _{max}	U _x	U _{min}	U _{max}	n	U _{cp}	t _{max}	U _x	U _{min}	U _{max}	n	t _{cp}	t _{max}			
Контроль	0,41	0,049	0,30	6,0	0,14	10-16	4,0	2,3	15,7	6,8	5,98	10-19	1,6	0,6	9,5	15,8	3,13	2-	13-1		
																				18-20	23-25
<i>Приленская 9</i>																					
УФ-облучение 5 мин	0,20	0,085	0,46	5,4	0,22	1-8	1,85	0,32	2,9	9,1	0,87	1-7	0,9	0,25	1,8	7,2	0,76	1-	14-1		
																				10-12	11-13
УФ-облучение 60 мин	0,08	0,06	0,17	2,8	0,09	1-5	1,5	0,8	3,6	4,5	2,14	2-3	0,28	0,09	1,0	11,1	0,49	1-	18-2		
																				12-15	5-10
																				17-22	12-15
<i>Скороспелка</i>																					
	0,05	0,04	0,14	3,5	0,08	1-7	1,9	0,5	2,7	5,4	1,68	4-7	0,29	0,04	0,4	10,0	0,21	1-	14-1		
																				10-16	12-13
																				17-22	14-19

Активность ферментов (мкмоль/мин на 1 г сухой ткани) зародыша зерен пшеницы сортов Приленская 9 и Скороселка во время 24 ч набухания

Вариант	Г6ФДГ				АДГ				Пероксидаза											
	U _k	U _{min}	U _{max}	n	U _{cp}	t _{max}	U _k	U _{min}	U _{max}	n	U _{cp}	t _{max}	U _k	U _{min}	U _{max}	n	U _{cp}	t _{max}		
Контроль	0,53	0,10	1,06	10,6	0,58	5-16	10,8	10,8	95,7	8,9	39,17	3-7	32,0	26,0	75,7	2,9	46,22	3-8	16-25	27-36
<i>Приленская 9</i>																				
УФ-облучение 5 мин	0,56	0,36	1,04	2,9	0,59	5-11	7,5	6,4	13,4	2,1	9,43	1-4	19,9	5,2	19,9	3,2	12,55	1-3	5-14	18-22
УФ-облучение 60 мин	0,40	0,26	0,87	3,3	0,51	3-9	10,9	6,9	25,4	3,7	12,82	1-7	12,1	8,0	22,3	2,8	14,58	1-8	12-14	20-24
<i>Скороселка</i>																				
	0,18	0,18	0,63	3,5	0,42	8-18	4,4	2,6	8,1	3,1	5,80	5-6	4,0	1,75	5,7	3,3	3,66	4-6	15-17	21-24

тиоксидантов, способных подавлять свободнорадикальные процессы, что проявляется в своеобразной динамике ПОЛ в этих частях семени. Причем уровень ПОЛ находится в обратной зависимости от антиоксидантной активности. В опыте он возрастал в эндосперме в 2,2 раза, зародыше — в 3,3, в щитке — уже в 7,2 раза (рис. 1, а). Следовательно, наиболее активно деструктивные процессы протекают в щитке семени пшеницы, что, возможно, играет важную роль в пусковом механизме при выходе семян из состояния покоя.

Что касается динамики активности Г6ФДГ, АДГ и пероксидазы зерен пшеницы в течение 24 ч набухания, то, как следует из рис. 2, ей свойственна индивидуальная периодичность, зависящая от природы фермента и места его локализации (табл. 1, 2, 3). Аналогичная картина наблюдалась при прорастании семян гороха, у которых увеличение скорости биосинтеза макромолекул приходилось на 6—9-й и 14—22-й часы [7]. Между этими двумя периодами исследователи отмечали снижение интенсивности биосинтеза белка и дРНК. Причем изменение скорости процессов синтеза РНК, белков определялось уровнем содержания предшественников, активностью РНК-полимераз, структурно-функциональным строением хроматина. Активность РНК-полимераз обнаруживалась уже на 1-м часу набухания семян. В дальнейшем ходе прорастания семян наблюдалось 3-фазное изменение активности этих РНК-полимераз, которое коррелирует с 3-фазным изменением биосинтеза РНК.

лирует с 3-фазным изменением биосинтеза РНК.

Наблюдаемая нами периодичность активности ферментов обусловлена интенсивностью процессов биосинтеза белков [7], в том числе и ферментов, а также активностью протеолитических ферментов [31], осуществляющих гидролитическое расщепление белков в клетке, поскольку ни ингибиторов, ни активаторов исследуемых ферментов в среде нами обнаружено не было. Оценку уровня интенсивности этих процессов можно производить с помощью определения значенной максимальной (U_{\max}) и минимальной (U_{\min}) скоростей ферментативных реакций. Поскольку U_{\max} и U_{\min} равны каталитической константе — соответственно K_{\max} и K_{\min} максимальной и минимальной концентрациям фермента, отношение $U_{\max} : U_{\min}$ позволяет судить об эффективности процесса биосинтеза фермента.

Наибольшая активность всех изучаемых ферментов отмечается в зародыше, наименьшая — в эндосперме. Так, максимальная активность Г6ФДГ, АДГ и пероксидазы в зародыше выше, чем в эндосперме, соответственно в 5, 20, 9,7 раза, а в щитке — в 3,5, 6, 7,9 раза (табл. 1, 2, 3). Средняя скорость биосинтеза Г6ФДГ, АДГ и пероксидазы в зародыше выше, чем в эндосперме, в 5,7, 16,5, 12 раз, в щитке — в 4, 6,5, 14,8 раза.

Нами показано, что малые дозы УФ-излучения могут изменять периодичность возрастания активности ферментов со сдвигом экстремумов на более раннее время (рис. 3, 4). При этом максималь-

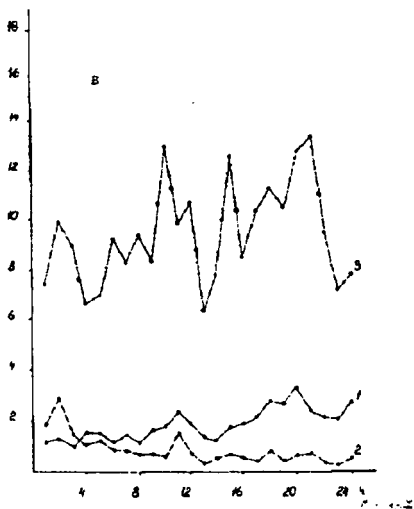
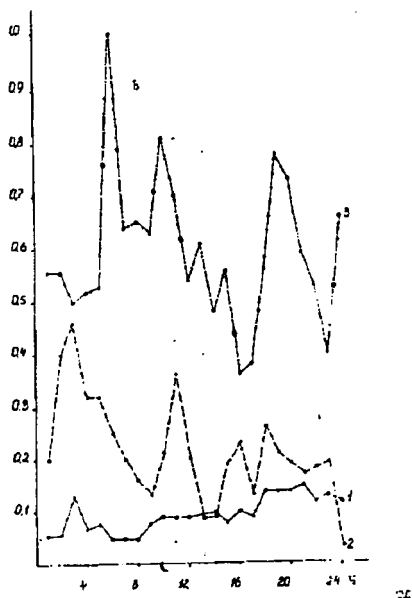
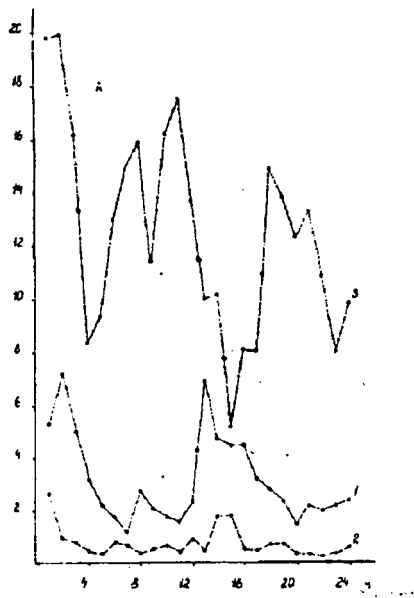


Рис. 3. Динамика активности (мкмоль/мин на 1 г ткани) пероксидазы, АДГ и Г6ФДГ зерен пшеницы сорта Приленская 9 после 5 мин УФ-облучения в процессе 24 ч набухания. Обозначения те же, что на рис. 2.

ная активность АДГ и пероксидазы эндосперма уменьшается соответственно на 17—30 и 8—27%, щитка — 78—82 и 80—90%, зародыша — на 75—86 и 70—75% (табл. 1, 2, 3), а активность Г6ФДГ — всего на 10—25%. Средняя скорость синтеза АДГ и пероксидазы зерен пшеницы, подвергнутых УФ-облучению, понижается в зародыше в 3—4, в щитке — в 5—6 раз (табл. 2, 3). В таких зернах отмечается снижение активности АДГ и пероксидазы в щитке в 3—7 и 2,5—6, в зародыше — в 1,3—1,5, 3—5 раз.

Выход из покоя семян обуславливается интенсивностью биохимических процессов прежде всего в зародыше и щитке.

Ослабление этих процессов может приводить к понижению всхожести и энергии прорастания зерен практически до нуля. Это мы

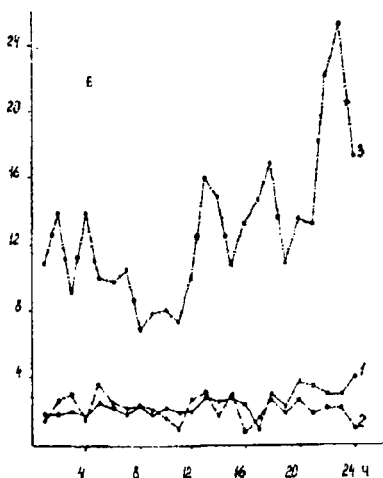
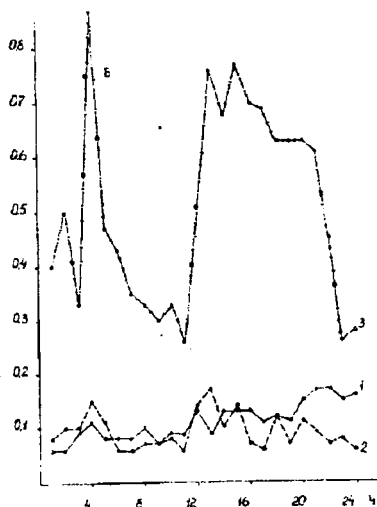
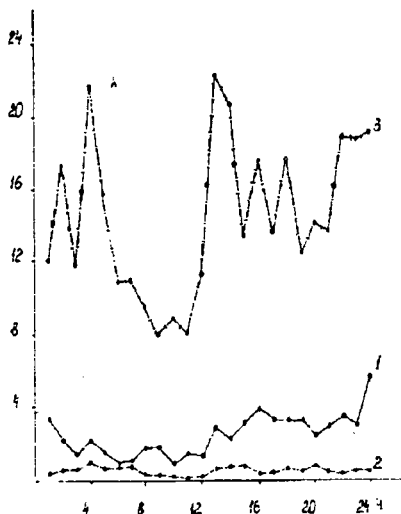


Рис. 4. Динамика активности (μмоль/мин) на 1 г ткани) пероксидазы, АДГ и Г6ФДГ зерен пшеницы сорта Приленская 9 после 60 мин УФ-облучения в процессе 24 ч набухания. Обозначения те же, что на рис. 2.

наблюдали у зерен пшеницы сорта Скороспелка урожая 1983 г. (рис. 5 и табл. 1, 2, 3), хотя их жизнеспособность сохранялась на уровне 56—60%.

Прорастание сопровождается активацией биосинтеза белков во всех составных частях семени. Причем синтез РНК начинается так же рано, как и синтез белка [21, 23, 25, 30]. Для семян гороха показано [4], что стадия набухания зародыша занимает первые 6—8 ч, лаг-период продолжается до 18-го часа от начала набухания, а затем начинается фаза роста. Установлено [11, 24], что: 1) синтез белка и РНК начинается сразу с момента достаточного оводнения клеток; 2) активация генома и активация аппарата трансляции происходит одновременно и независимо друг от друга; 3) продукты ранней трансляции и транскрипции достаточно стабильны, так как набухание за-

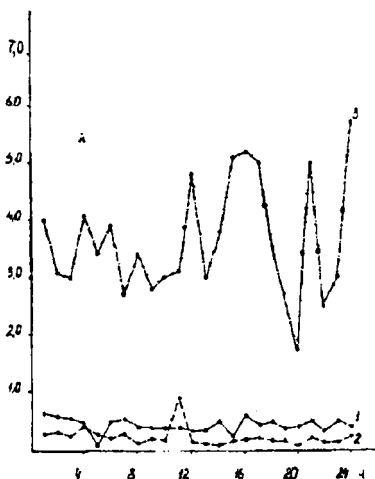
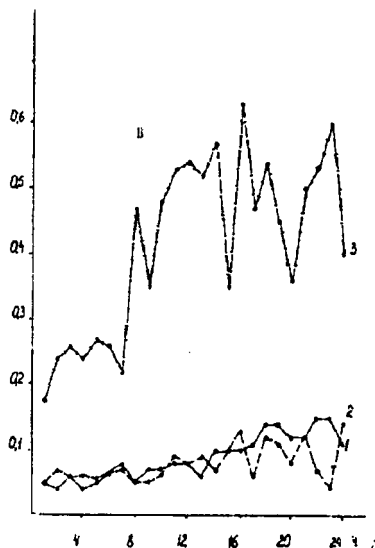
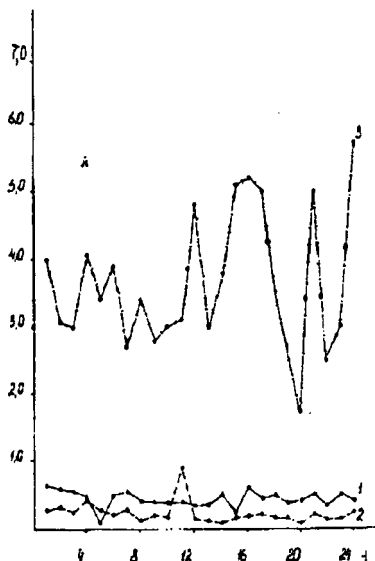


Рис. 5. Динамика активности (мкмоль/мин на 1 г ткани) пероксидазы, АДГ и Г6ФДГ зерен пшеницы сорта Скороспелка (урожая 1983 г.) в процессе 24 ч набухания.

Обозначения те же, что на рис. 2.

родыша сопровождается их постоянным накоплением. На зародышах пшеницы [30, 37], ржи [34], редиса [26], гороха [23] установлено, что синтез белка всех главных типов РНК происходит одновременно вскоре после начала набухания семян и что относительная доля новосинтезированных мРНК в первые часы набухания несколько выше, чем в последующие. Причем в запасующих тканях различия в скорости синтеза мРНК и рРНК в начальный период прорастания выражены в значительно большей степени, чем в остальных органах. На ранних стадиях прорастания скорость биосинтеза белков регулируется в основном типами матричных РНК, благодаря которым определяется набор синтезируемых белков, в том числе и ферментов [4]. Процесс набухания семян активизирует как специализированные генети-

ко-биохимические программы, так и общую программу метаболического развития на самых ранних стадиях прорастания, рассчитанную на короткий промежуток времени, включающий набухание и лаг-фазу прорастания [4]. Реализация этих программ обеспечивает выход семян из состояния вынужденного покоя и нормальный рост и развитие проростков и корней.

Наблюдаемая нами определенная периодичность в повышении активности пероксидазы, АДГ и Г6ФДГ на ранних этапах прорастания семян. Ритм в процессе биосинтеза ферментов задается как преформированными, так и новообразованными мРНК [4]. По активности ферменты в различных частях семени пшеницы распределяются в следующем порядке: зародыш > щиток > эндосперм. Неравномерное распределение ферментов, возможно, служит свидетельством определенной специфичности проявления их действия в этих частях семени.

Антиокислительная активность семян зависит от содержания антиоксидантов и активности ферментов оксидаз (СОД, пероксидазы и др.). Из результатов исследования видно, что набухание семян сопровождается активизацией ПОЛ и увеличением антиокислительной активности. Однако это наблюдается только у зародыша и эндосперма, тогда как в щитке в течение 24 ч набухания АОА и активность пероксидазы резко понижаются при возрастании ПОЛ. По-видимому, данное явление обеспечивает функционирование своеобразного регуля-

торного механизма, присущего только щитку семян. Возможно, активизация деструктивных процессов в щитке семени пшеницы играет важную роль в пусковом механизме при выходе семян из состояния покоя.

Для изучения влияния УФ-излучения на динамику активности ферментов пусковых метаболических процессов обеспечивающих выход семян из состояния покоя, мы воздействовали на семена в течение 5 и 60 мин ультрафиолетовым светом [36]. Известно, что УФ-излучение инициирует образование в биологических системах свободных радикалов, которые модифицируют нуклеиновые кислоты, белки, аминокислоты, изменяют состав функционально активных веществ [18, 19, 34, 36]. Облучение семян ультрафиолетовым светом изменяло периодичность активизации всех исследуемых ферментов, инициируя возрастание активности ферментов уже в первые часы набухания семян. Однако сама активность ферментов была в несколько раз меньше, чем в контроле. Наиболее сильное падение активности отмечается у ферментов в зародыше и щитке, тогда как в эндосперме значения активности ферментов изменялись незначительно. Эти различия, возможно, обусловлены высоким содержанием в эндосперме веществ, обладающих антиоксидантной активностью и препятствующих инактивации ферментов.

Низкая активность ферментов в первые часы набухания, по-видимому, вызвана повреждением УФ-излучением преформированных

мРНК и частичной денагурацией самих ферментов. Наиболее сильно снижалась активность пероксидазы — фермента, входящего в систему антиоксидантной защиты семян. Так как *in vitro* пероксидаза, являясь мономерным белком, в несколько раз устойчивее к действию денатурирующих факторов, чем АДГ и Г6ФДГ, состоящие соответственно из 2 и 4 субъединиц.

Снижение общей активности ферментов в течение 24 ч набухания, возможно, связано с повреждением как белоксинтезирующих органелл, так и новосинтезированных мРНК. Особенно резкое снижение активности ферментов отмечается в зародышке и щитке, вследствие чего в зародышке и эндосперме сохраняется высокая активность ферментов, однако по сравнению с контролем она ниже в несколько раз. Наиболее существенное понижение активности было отмечено у пероксидазы и АДГ, поскольку это цитоплазматические ферменты. Г6ФДГ является мембранным белком и вследствие действия УФ-излучения, приводящего к разрушению мембран, активность этого фермента может даже несколько возрастать.

Таким образом, малые дозы УФ-излучения, провоцируя свободнорадикальные процессы, могут изменять скорость синтетических процессов в зерне, ускорять биосинтез ферментов в начальный период набухания, приводя к повышению активности ключевых ферментов метаболических процессов. Отмечаемое понижение активности дегидрогеназ и

оксидаз в щитке приводит к утрате его функциональной активности, что, возможно, сказывается на его избирательной регуляторной функции и в целом на всхожести зерен пшеницы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков А.И., Мохосов П.М. Модификация белков активным кислородом и их распад. — Биохимия, 1989, т. 54, № 2, с. 179—186. — 2. Вартамян Л.С., Гуревич С.М. NADH- и NADPH-зависимое образование супероксидных радикалов в ядрах печени. — Биохимия, 1989, т. 54, № 6, с. 1020—1025. — 3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. — 4. Гумелевская Н.А., Чумикина Л.В., Шатилов В.Р. Синтез белка и РНК в покоящихся семенах. — Биохимия, 1995, т. 60, № 1, с. 35—48. — 5. Дубинина Е.Е., Шугай П.В. Окислительная модификация белков. — Успехи соврем. биологии, 1993, т. 113, № 1, с. 71—81. — 6. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах. — Успехи соврем. биологии, 1993, т. 113, № 3, с. 286—296. — 7. Калинин Ф.Л. Теоретические основы управления ростом, развитием и продуктивностью растений эндогенными и экзогенными факторами. — Физiol. и биохим. культ. раст., 1986, т. 18, № 6, с. 537—555. — 8. Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе. — Успехи соврем. биологии, 1993, т. 113, № 4, с. 456—470. — 9. Кершенгольц

- Б.М., Рогожин В.В. Влияние межсубъединичных взаимодействий в лагозодегидрогеназе из печени лошади на кинетику окисления этанола. — Биохимия, 1979, т. 44, № 4, с. 661—671. — 10. Лебедева О.В., Угарова Н.Н., Березин П.В. Кинетическое изучение реакции окисления о-дианилидина перекисью водорода в присутствии пероксидазы из хрена. — Биохимия, 1977, т. 42, № 8, с. 1372—1379. — 11. Марченко М.М., Хлус Л.М., Костишин С.С. Активность РНК-полимераз зародышей прорастающих семян кукурузы в связи с гибридизацией. — Докл. АН Украины, 1993, № 4, с. 146—149. — 12. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов. — Успехи соврем. биологии, 1993, т. 113, № 4, с. 442—455. — 13. Методы биохимического исследования растений / Изд. 3, перераб. и доп.; Под ред. А.И. Ермакова. Л.: Агропромиздат, 1987, с. 109—110. — 14. Николаева М.Г. Физиология глубокого покоя семян. Л.: Наука, 1967. — 15. Рогожин В.В. Возможные механизмы регулирования активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы избытком субстрата и кофермента. — Биоорганическая химия, 1996, т. 22, № 8, с. 575—579. — 16. Рогожин В.В., Егорова Л.Е. Влияние экзогенных этанола и ацетальдегида на жизнеспособность семян. — В сб.: Этанол и его метаболизм в высших организмах. Якутск, 1990, с. 90—99. — 17. 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. — 18. Рошупкин Д.И. Молекулярные механизмы повреждения биомембран, липидов и белков под действием ультрафиолетового излучения. — Докт. дис. М., 1980. — 19. Тарусов Б.Н. Основы биологического действия радиоактивных излучений. М.: Медгиз, 1954. — 20. Bateman L., Gee G. — Proc. Roy. Soc. Acad., 1948, vol. 195, N 1042, p. 376—391. — 21. Bewley J.D. — Encyclopedia of Plant Physiol. New. Ser., 1982, 14a, p. 559—591. — 22. Brown K., Fridovich I. — Arch. Biochem. Biophys., 1981, vol. 206, p. 414—419. — 23. Greenway S.C., Strangeway G.M., Grierson D., Brayant J.A. — Ann. Bot., 1986, vol. 57, p. 771—781. — 24. Gumilevskaya N.A., Sczazhennik M.A., Akhmatova A.T. et al. — Biol. Plantarum, 1982, vol. 25, p. 363—373. — 25. Datta K., Marsh L., Marcus A. — Plant Physiol., 1983, vol. 72, p. 394—397. — 26. Delseny M., Aspart L. — Physiol. Vegetal., 1977, vol. 15, p. 415—430. — 27. Fridovich I. — Sci., 1978, vol. 201, N 4359, p. 875—880. — 28. Kantor G.J., Ritter C. — Photochem. a. Photobiol., 1983, vol. 37, p. 533—538. — 29. Konev S.U., Volotovskiy J., Sheiko L. — Photochem. a. Photobiol., 1978, vol. 27, N 2, p. 287—296. — 30. Marcus A., Rodaway S.J. — Mol. Biol. Plant Develop. Botanical Monographs / eds. H. Swith, D. Grierson, vol. 18, Sci. Publ., Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, Blackwell, 1982, p. 337—364. — 31. Migabo T., Gifford D.J. — Plant Physiol., vol. 105, N 1, Suppl., p. 165. — 32. Murray R.I., Fisher M.T., Debrunner P.G. — Metalloproteins. Part. 1. Metall Prote-

ins with Redox Roles / Ed. Harrison P. Florida; Basel: Verlag Chemie, 1985, p. 157—206. — 33. *Peak M.J., Peak J.G., Webb R.B.* — *Mut. Res.*, 1973, vol. 20, N 1, p. 143—147. — 34. *Roschupkin D.I., Pelenitsyn A.B. et al.* — *Photochem. a. Photobiol.*, 1975, vol. 21, N 1, p. 63—69. — 35. *Sen S., Payne P., Osborne D.J.* —

Biochem. J., 1975, vol. 148, p. 381—387. — 36. *Somme C.* — *Arch. Phys. Therapy, x-ray, Radium.*, 1929, vol. 10, p. 239—252. — 37. *Spiegel S., Obendorf R., Marcus A.* — *Plant Physiol.*, 1975, vol. 56, p. 502—507.

Статья поступила 3 марта 1997 г.

SUMMARY

The dynamics in activity of glucose-6-phosphatedehydrogenase (G6PDG), alcoholdehydrogenase (ADG) and peroxidase (PR) in different parts of wheat grain of Prilenskaya-9 variety was studied during 24 hours of swelling. It is shown that there is individual regularity in activity increase of enzymes which depends on their nature and localization. Small doses of ultraviolet radiation can change this regularity by the shift of extrema to earlier time. Maximum activity of ADG and PR of endosperm decreases by 17-30 and 8—27%, of corymb — by 78—82 and 80—90, of plumule — by 75—86 and 70—75% respectively, with decrease of G6PDG activity in these parts of wheat grain only by 10—25%. Considerable decrease in enzyme activity in corymb and plumule is observed in seeds subjected to ultraviolet radiation, while in endosperm it may even get a little higher. Ultraviolet radiation of wheat seed causes the decrease in ADG and PR activity in corymb — 3—7 and 2.5—6 times, in plumule — 1.3—1.5 and 3—5 times lower. Probably one of the reasons of lower enzyme activity in corymb and plumule is the increased concentration of hydrolytic enzymes from lysosomes damaged by ultraviolet radiation. It is especially evident in corymb structure. Lower dehydrogenase and oxidase activity in corymb results in loss of its functional activity, which probably has an effect on its selective regulatory function and on germinating power of wheat seed as a whole.