

УДК 633.11«324»:581.19:631.811

**АКТИВНОСТЬ И СВОЙСТВА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ
ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ ПИТАНИЯ**

А. С. ПЛЕШКОВ

(Кафедра агрономической и биологической химии)

Протеолитические ферменты, как известно, играют исключительно важную роль в мобилизации запасных белков семени при его прорастании [2, 6]. Однако влияние условий минерального питания растений в период созревания на процессы прорастания семян и активность их протеолитических ферментов до сих пор не изучено. В связи с этим

нами исследовались белковый и протеазный комплекс прорастающих семян озимой мягкой пшеницы, сформировавшихся при различных условиях питания, а также действие на протеазы проростков ингибитора белкового синтеза — хлорамфеникола.

Материал и методы исследований

Образцы зрелого зерна озимой пшеницы Мироновской 808 отбирали с полевого опыта, заложеного на дерново-подзолистой почве Московской области по следующей схеме: без удобрений (1-й вариант) и $N_{100}P_{60}K_{60}$ (2-й вариант).

Для изучения активности протеолитических ферментов проростков зерно замачивали и проращивали в термостате при 25° в течение 72 ч. При исследовании действия ингибитора проростки переносили на фильтры, смоченные 0,05 % хлорамфениколом на 1 ч через 71 ч после замачивания и на 20 ч через 52 ч после замачивания. Для выделения ферментного раствора брали 50 мг ростков и 50 мг корешков соответствующего варианта, растирали с песком, и растертую массу с 3 мл воды переносили в центрифужные пробирки. После настаивания в холодильнике в течение 1 ч и центрифугирования при 3000 об/мин надосадочную жидкость использовали в качестве ферментного раствора: Для выделения ферментного раствора из эндосперма 1 г материала растирали с песком. После настаивания с 10 мл воды в течение 1 ч в холодильнике дальнейшие операции проводили аналогично указанным выше для ростков и корешков.

Аминопептидазную активность определяли по методике, предложенной Бюргером и сотрудниками [9]. К 2,5 мл $1,37 \cdot 10^{-3}$ М раствора L-лейцил- β -нафламида в 0,5 М фосфатно-цитратном буфере приливали 0,2 мл ферментного раствора и инкубировали 10 мин при 40° . Активность рассчитывали по разности поглощения (при E_{335}) в начале и в конце инкубации. За единицу активности принимали количество фермента, вызывающего изменение оптической плотности 0,001 за 1 мин. Удельную активность рассчитывали на 1 мг белка.

Кроме аминопептидазной активности, определяли активность эндопептидаз с N- α -бензоил-L-аргининамидом. К 2,5 мл $3,02 \cdot 10^{-3}$ М раствора N- α -бензоил-L-аргининамида в 0,5 М фосфатно-цитратном буфере приливали 0,2 мл ферментного раствора и инкубировали 10 мин при 40° . Активность ферментов рассчитывали по разности поглощения в начале и в конце инкубации (при E_{253}), удельную активность ферментов — так же, как и активность аминопептидаз. Концентрацию белков в растворе определяли по Лоури.

Для более детального изучения свойств протеолитических ферментов, а также для изучения действия на протеолитические ферменты ингибитора белкового синтеза хлорамфеникола водорастворимые белки эндосперма разделяли на колонке ($D = 1,5$ см, $h = 10$ см) с ДЭАЭ-целлюлозой

Так как протеолитические ферменты довольно быстро теряют активность, дли-

тельный диализ против буфера не проводился. 10 мл ферментного раствора доводили до pH 7,4 одним из компонентов фосфатного буфера, разбавляли в 4 раза фосфатным буфером (pH 7,4) и наносили на колонку. Разделение было ступенчатым. Вначале использовали 0,005 М фосфатный буфер, pH 7,40 (фракция I) и 0,05 М NaCl в 0,005 М буфере, pH 7,20 (фракция II), затем последовательно 0,1; 0,2; 0,4 М NaCl в том же буфере при pH соответственно 7,12; 6,97 и 6,78 (фракции III, IV и V), затем 1 % NaOH (фракция VI).

При определении активности протеаз за основу был взят метод Ансона [8]. К 1 мл 0,5 М фосфатно-цитратного буфера приливали 1 мл 1 % раствора казеина (по Гаммерстону) и для изучения свойств ферментов 0,2 мл $1,65 \cdot 10^{-3}$ М цистеина, $2,86 \cdot 10^{-3}$ М парахлормеркурибензоата (п-ХМБ), $2,7 \cdot 10^{-3}$ М этилендиаминтетраацетата (ЭДТА), 3 % H_2O_2 или воды. Смесь нагревали до 30° , приливали 0,2 мл ферментного раствора и инкубировали при 30° в течение 1 ч. После инкубации в пробирку добавляли по 2,5 мл трихлоруксусной кислоты (ТХУК) и через 30 мин термостатирования при 30° фильтровали. В контрольную пробирку приливали вначале ТХУК, а затем ферментный раствор. За единицу протеолитической активности принимали количество фермента, вызывающего изменение оптической плотности — 0,001 за один час против контроля (при E_{280}). Полученные результаты выражали в удельной активности, рассчитанной как число протеолитических единиц на 1 мг белка.

Интенсивность синтеза белков определяли с помощью метода радиоактивных индикаторов. Для этой цели проводили инфильтрацию меченого ^{14}C -глицина в целые проростки в концентрации 20 мкг/мл с удельной активностью 50 000 расп/мин·мкг. В дальнейшем проростки выдерживали в токе теплого воздуха для доведения до постоянной массы, и после 15-минутной экспозиции на свету (4000 люкс) 50 мг ростков, корешков или эндосперма растирали в маленькой ступке с песком и 1 мл воды. Растертую массу переносили в центрифужные пробирки. Ступку 2 раза споласкивали 2 мл 0,5 % раствора казеина (для улучшения осаждения белков), белки в пробирке осаждали 3 мл 5 % ТХУК, центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Осадок один раз промывали 5 мл 2 % ТХУК, белки гидролизovali с 3 мл 1 % NaOH в течение 1 ч при 60° . По 0,5 мл гидролизата вносили в сцинтилляционную смесь, приготовленную на основе диоксана. Радиоактивность измеряли на жидкостно-сцинтилляционном бета-спектрометре МАРК-II. Белковый и небелковый азот определяли стандартными методами [5].

Результаты исследований

При проращивании зерна, полученного в варианте без удобрений (вар. 1) на воде и растворе хлорамфеникола, ингибитор белкового синтеза практически не снижал массы ростков и корешков, а масса эндосперма уменьшалась незначительно (табл. 1). Относительное содержание белкового и небелкового азота в эндосперме не изменялось, однако в расчете на 1000 проростков при проращивании семян на хлорамфениколе их масса снижалась меньше, чем при проращивании на воде (табл. 2).

У зерна варианта $N_{100}P_{60}K_{60}$ масса корешков при проращивании на хлорамфениколе достоверно снизилась. Содержание белкового азота в расчете на 1000 проростков при проращивании на растворе с хлорамфениколом в ростках и корешках 1-го и в ростках 2-го варианта уменьшилось на 11—12%, а в корешках 2-го варианта — на 41%. Содержание небелкового азота при проращивании семян на растворе хлорамфеникола снизилось и в ростках и в корешках, причем наиболее значительно в ростках 1-го и в корешках 2-го варианта. Особый интерес, на наш взгляд, представляло изучение белково-протеазного комплекса прорастающих семян.

Ростки, корешки и эндосперм проростков пшеницы, выращенной с применением удобрений, имели более низкую активность амино-

Таблица 1

Абсолютно сухая масса 1000 проростков (г)

Условия проращивания	Ростки	Корешки	Эндосперм
Без удобрений			
72 ч на воде	$1,30 \pm 0,07$	$1,27 \pm 0,08$	$26,7 \pm 1,0$
52 ч на воде + 20 ч на 0,05% хлорамфениколе	$1,30 \pm 0,09$	$1,16 \pm 0,07$	$28,1 \pm 0,6$
$N_{100}P_{60}K_{60}$			
72 ч на воде	$1,32 \pm 0,07$	$1,50 \pm 0,10$	$30,4 \pm 0,5$
52 ч на воде + 20 ч на 0,05% хлорамфениколе	$1,15 \pm 0,06$	$1,08 \pm 0,04$	$31,4 \pm 0,7$

Таблица 2

Содержание белкового и небелкового азота в проростках озимой пшеницы
(в числителе — % на абсолютно сухое вещество,
в знаменателе — в расчете на 1000 проростков, мг)

Условия проращивания	Ростки		Корешки		Эндосперм	
	N _{белк}	N _{небелк}	N _{белк}	N _{небелк}	N _{белк}	N _{небелк}
Без удобрений						
2 ч на воде	$\frac{3,67}{48}$	$\frac{3,26}{43}$	$\frac{2,47}{31}$	$\frac{2,40}{30}$	$\frac{1,70}{454}$	$\frac{0,24}{64}$
52 ч на воде + 20 ч на 0,05% хлорамфениколе	$\frac{3,20}{42}$	$\frac{1,86}{24}$	$\frac{2,26}{26}$	$\frac{2,20}{26}$	$\frac{1,70}{495}$	$\frac{0,23}{65}$
$N_{100}P_{60}K_{60}$						
72 ч на воде	$\frac{2,07}{28}$	$\frac{2,26}{30}$	$\frac{2,57}{39}$	$\frac{2,86}{43}$	$\frac{1,82}{553}$	$\frac{0,33}{100}$
52 ч на воде + 20 ч на 0,05% хлорамфениколе	$\frac{2,07}{24}$	$\frac{2,20}{25}$	$\frac{1,92}{21}$	$\frac{2,26}{24}$	$\frac{1,81}{569}$	$\frac{0,33}{107}$

Активность протеолитических ферментов в проростках озимой пшеницы

Условия проращивания	Ростки			Корешки			Эндосперм		
	ЛНА		БАА	ЛНА		БАА	ЛНА		БАА, рН 6,0
	рН 3,5	рН 6,0	рН 6,0	рН 3,5	рН 6,0	рН 6,0	рН 3,5	рН 6,0	
Без удобрений									
72 ч на воде	25,5	35,2	19,0	32,6	41,8	53,3	45,4	13,6	34,3
71 ч на воде+1 ч на 0,05% хлорамфениколе	28,3	34,4	18,9	39,5	65,1	68,6	56,8	17,6	54,0
52 ч на воде+20 ч на 0,05% хлорамфениколе	19,9	26,8	17,9	34,9	29,0	18,3	40,6	12,1	27,1
$N_{100}P_{60}K_{80}$									
72 ч на воде	16,5	27,7	11,2	26,9	29,0	26,9	34,3	10,6	14,3
71 ч на воде+1 ч на 0,05% хлорамфениколе	29,3	56,0	35,3	43,5	60,7	53,6	39,3	12,5	11,4
52 ч на воде+20 ч на 0,05% хлорамфениколе	24,7	37,5	12,8	30,9	35,1	13,3	35,3	10,0	5,3

Примечание. ЛНА—активность аминопептидаз с субстратом L-лейцил-β-нафтиламидом; БАА—активность эндопептидаз с субстратом N-α-бензоил-L-аргининамидом.

и эндопептидаз, чем проростки из семян в варианте без удобрений (табл. 3).

В литературе отмечается [4], что менее продуктивные сорта по сравнению с высокопродуктивными интенсивнее мобилизуют азот из зерновки на ранних этапах роста (до 8 сут прорастания). Семена, выращенные при различных условиях питания, как правило, заметно различаются по продуктивности. В нашем опыте наибольшее количество азота накопилось в ростках и корешках 1-го варианта (без удобрений).

Активность кислых аминопептидаз (рН 3,5) в ростках и корешках была значительно ниже, чем нейтральных аминопептидаз (рН 6,0). Однако активность кислых аминопептидаз эндосперма более чем в 3 раза превышала активность нейтральных (табл. 3). Корешки характеризовались более высокой эндопептидазной активностью, чем ростки и эндосперм. Таким образом, наблюдались аналогичные закономерности в распределении активности протеолитических ферментов в ростках, корешках и эндосперме. В результате переноса растений на 1 ч на фильтры, смоченные хлорамфениколом, активность амини- и эндопептидаз не изменялась или увеличивалась. При удлинении срока проращивания на ингибиторе (до 20 ч) активность ферментов была ниже, чем при часовом ингибировании.

Различия между вариантами возрастали при проращивании семян на хлорамфениколе. Так, если активность амини- и эндопептидаз в ростках и корешках 2-го варианта увеличивалась при часовом ингибировании, то в ростках 1-го варианта практически не изменялась, а в корешках возрастала менее значительно, чем в варианте с удобрениями.

Для более детального изучения свойств протеолитических ферментов водорастворимые белки эндосперма разделяли на ДЭАЭ-целлюлозе. В результате хроматографического разделения белков было установлено, что в эндосперме семян 1-го варианта содержалось почти на 9% больше белков, не сорбируемых на ДЭАЭ-целлюлозе.

Разделение водорастворимых белков эндосперма на ДЭАЭ-целлюлозе
(белки фракций, % от их суммы)

Условия проращивания	Фракции белков					
	I	II	III	IV	V	VI
Без удобрений						
72 ч на воде	56,4	10,9	5,9	6,3	5,1	15,4
52 ч на воде+20 ч на 0,05% хлорамфениколе	56,6	11,3	6,5	6,6	3,7	15,3
$N_{100}P_{60}K_{60}$						
72 ч на воде	47,6	12,1	7,8	7,6	6,3	18,6
52 ч на воде+20 ч на 0,05% хлорамфениколе	51,6	10,0	7,3	8,2	4,9	18,0

При проращивании семян в течение 20 ч на хлорамфениколе соотношение белковых фракций в 1-м варианте практически не изменилось, во 2-м варианте количество несорбируемых на ДЭАЭ-целлюлозе белков возросло с 47,6 до 51,6 % и несколько снизилось содержание белков, элюируемых 0,05 M и 0,4 M NaCl (табл. 4). Следует также отметить, что между вариантами различия были более существенными, чем внутри вариантов при проращивании на воде и ингибиторе.

Поскольку при разделении на ДЭАЭ-целлюлозе в условиях опыта ступенчато изменялась не только ионная сила элюирующего раствора, но и его pH, все пробы, элюируемые каждым отдельным элюатом, для изучения свойств ферментов были сгруппированы в две фракции — пик выхода белков и окончание пика. О составе протеазного комплекса эндосперма озимой пшеницы и некоторых особенностях его функционирования судили по действию на протеолитические ферменты ингибитора белкового синтеза — хлорамфеникола и различных эффекторов.

При рассмотрении свойств ферментов эндосперма 1-го варианта после проращивания на воде выявлено, что в белках 1-й фракции имеются ферменты, активность которых возрастает в присутствии всех эффекторов, но в большей степени при добавлении ЭДТА и перекиси водорода. Во 2-й фракции отсутствуют ферменты, активируемые перекисью водорода. В этой фракции увеличивается доля ферментов, активируемых цистеином и ЭДТА, в то же время наблюдается значительное ингибирование протеазной активности при наличии п-ХМБ. В 3-й фракции ферменты активируются п-ХМБ, цистеином, ЭДТА, в 4-й — все ферменты отсутствуют. Таким образом, изучение протеолитических ферментов с использованием различных эффекторов позволило сделать вывод о наличии в 1—3-й фракциях не одного, а, как минимум, трех различных ферментов.

Сопоставляя активность ферментов в присутствии различных эффекторов (табл. 5), можно предположить, что в эндосперме 1-го варианта, как минимум, имеется 4 изофермента в 5—10-й фракциях: 1) активируемые цистеином в 5—10-й фракциях; 2) п-ХМБ в 6—10-й фракциях; 3) ЭДТА в 6- и 7-й фракциях; 4) перекисью водорода в 7—10-й фракциях. Для эндосперма 2-го варианта характерен довольно сходный комплекс ферментов, разлагающих казеин. В 1—3-й фракциях обнаружены ферменты, активируемые цистеином, с максимумом активности, как и в 1-м варианте, во 2-й фракции. В 5—10-й фракциях выявлены белки-ферменты, активируемые цистеином, причем в этих фракциях, вероятно, присутствуют 3 изофермента. В 1-м варианте эти

Изменение протеазной активности отдельных фракций водорастворимых белков эндосперма под действием хлорамфеникола и других эффекторов (разделение белков на ДЭАЭ-целлюлозе; 1—11—номера сгруппированных фракций)

Условия проращивания	Эффектор	Фракции белков										
		I		II		III		IV		V		VI
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Без удобрений												
72 ч на воде	Вода	33	83	39	0	0	266	0	160	0	0	0
	Цистеин	43	150	71	0	50	550	230	300	34	200	21
	п-ХМБ	43	28	59	0	0	140	52	300	180	300	0
	ЭДТА	82	178	130	0	0	610	177	0	0	0	0
	H ₂ O ₂	55	0	0	0	0	0	46	500	113	900	0
52 ч на воде +20 ч на 0,05% хлорамфениколе	Вода	40	300	127	405	270	0	0	225	155	0	0
	Цистеин	37	50	60	176	230	0	0	750	138	0	0
	п-ХМБ	29	0	64	108	0	0	0	0	172	0	0
	ЭДТА	0	250	0	243	54	240	0	0	69	1500	0
	H ₂ O ₂	17	0	0	0	0	740	0	0	0	0	0
N ₁₀₀ P ₆₀ K ₆₀												
72 ч на воде	Вода	137	182	32	0	0	0	163	0	272	0	9
	Цистеин	162	182	106	0	900	0	204	0	403	3000	44
	п-ХМБ	185	455	13	282	331	0	163	742	0	0	53
	ЭДТА	75	610	0	0	330	0	0	0	0	0	0
	H ₂ O ₂	158	0	119	81	555	0	105	464	0	0	31
52 ч на воде +20 ч на 0,05% хлорамфениколе	Вода	52	114	70	0	510	0	390	745	230	380	98
	Цистеин	49	114	53	0	570	0	345	640	318	270	135
	п-ХМБ	0	103	79	0	425	0	390	870	318	880	93
	ЭДТА	0	0	0	0	400	0	205	233	0	0	98
	H ₂ O ₂	52	0	0	240	455	0	305	290	159	0	86

ферменты были разделены менее четко. Под действием п-ХМБ повышалась активность протеаз 1, 2, 4, 5, 8-й фракций 2-го варианта и ингибировались 3-я и 9-я фракции, в то же время активность 7-й фракции практически не изменялась. При добавлении в качестве эффектора ЭДТА возрастала активность протеаз 2-й и 5-й фракций, наблюдалось некоторое ингибирование ферментов 1-й фракции и полное ингибирование протеаз всех других фракций. При добавлении перекиси водорода были активны ферменты 1, 3—5, 7—8-й фракций.

Таким образом, между двумя вариантами имеются некоторые различия по составу протеаз. Эти различия более четко проявляются при проращивании семян на хлорамфениколе.

Водорастворимые белки эндосперма 1—4-й фракций 1-го варианта обладали меньшей, а белки 5—10-й фракций большей активностью протеолитических ферментов, чем соответствующие белковые фракции 2-го варианта.

При проращивании на хлорамфениколе семян 1-го варианта возросла протеазная активность 1—4-й фракций и снизилась активность 5—10-й фракций, у семян 2-го варианта, наоборот, под действием ингибитора уменьшилась активность ферментов 1—4-й фракций и повысилась активность протеаз 5—10-й фракций. Увеличение или снижение протеазной активности под действием ингибитора белкового синтеза, очевидно, связано прежде всего с изменением состава протеазного комплекса прорастающих семян. Эти изменения довольно четко выявились в нашем эксперименте при воздействии на протеолитические ферменты различных эффекторов. Так, например, если ферменты 1—3-й фракций обоих вариантов при прорастании семян на воде активировались цистеином (кроме 2-й фракции 2-го варианта), то после проращивания на хлорамфениколе ингибировались.

Включение ^{14}C -глицина в белки проростков озимой пшеницы
(удельная радиоактивность, расп/мин)

Условия опыта	Вариант 1			Вариант 2		
	ростки	корешки	эндосперм	ростки	корешки	эндосперм
72 ч проращивания на воде	97±9	655±31	100±9	90±10	741±33	87±9
Инфильтрация хлорамфеникола	225±11	784±34	56±10	220±24	460±22	101±21
52 ч проращивания на воде+20 ч на хлорамфениколе	22±14	399±26	49±15	77±16	125±18	91±17

Проращивание семян в течение 20 ч на хлорамфениколе оказало заметное влияние на протеолитические ферменты эндосперма обоих вариантов. И несмотря на определенное сходство в действии ингибитора на состав протеолитических ферментов изучаемых вариантов, между ними отмечены довольно существенные различия.

Для изучения действия хлорамфеникола на процессы синтеза белка в проростках сравнивалась скорость включения ^{14}C -глицина в белки после проращивания пшеницы на воде и ингибиторе, а также после инфильтрации антибиотика в целые проростки. При инфильтрации хлорамфеникола время его действия на проростки было довольно небольшим, что позволяет оценить начальное воздействие ингибитора на процессы синтеза белка. В условиях 20-часового проращивания семян на хлорамфениколе ингибитор поступает в проростки через корни и может также диффундировать через оболочку эндосперма, а при инфильтрации ингибитор вводится во все органы проростка одновременно.

При инфильтрации глицина в проростки обоих вариантов скорость включения ^{14}C -глицина в белки была практически одинаковой (табл. 6). Можно отметить довольно высокую интенсивность включения радиоактивной метки в белки эндосперма. Интенсивность включения меченого глицина в белки корешков обоих вариантов была в 6—7 раз выше, чем в белки ростков и эндосперма, что является важным показателем роста корешков, а также синтеза и обновления в них белков.

При коротких экспозициях с ингибитором (после его инфильтрации) возрастала скорость включения ^{14}C -глицина в белки ростков и корешков 1-го варианта и в белки ростков 2-го варианта. Последнее не противоречит сложившимся представлениям о механизме действия ингибиторов белкового синтеза, согласно которым при их применении часто наблюдается кратковременное стимулирование ингибируемых ими процессов. Так, например, Э. Е. Хавкин и Ю. Я. Мазель отмечают, что в корнях кукурузы при экспозициях на хлорамфениколе до 3 ч увеличивается скорость включения меченого фосфора, затем этот процесс замедляется [7].

Более низкая интенсивность включения ^{14}C -глицина в белки эндоспермов 1-го и в белки корешков 2-го вариантов в нашем опыте при инфильтрации хлорамфеникола свидетельствует о заметном ингибировании даже в этих условиях процессов синтеза и обновления белков в проростках. Возможно, кроме специфического действия, хлорамфеникол как ингибитор синтеза белков может оказывать и неспецифическое воздействие на растительный организм.

После 20-часового проращивания на 0,05 % растворе хлорамфеникола скорость включения ^{14}C -глицина в белки ростков 1-го варианта снизилась в 4,5 раза, а в белки ростков 2-го варианта не изменилась.

Одинаковое влияние хлорамфеникола на скорость включения глицина в белки ростков обоих вариантов при инфильтрации и различное при проращивании на нем, по-видимому, связано с тем, что в первом случае ингибитор поступает непосредственно в ростки, а во втором — через корни. Более сильное воздействие хлорамфеникол оказывал на процессы синтеза и обновления белков в корнях 2-го варианта при 20-часовом проращивании семян. Под действием ингибитора скорость включения меченого глицина в белки корешков снизилась в 6 раз, а в белки корешков 1-го варианта — всего в 1,6 раза. Эти результаты совпадают с данными о значительном снижении белкового азота в корешках 2-го варианта при проращивании семян на хлорамфениколе (табл. 2).

Скорость включения меченого глицина в белки эндосперма 2-го варианта практически не изменялась как при инфильтрации хлорамфеникола, так и при 20-часовом проращивании на нем. Интенсивность включения ^{14}C -глицина в белки эндосперма 1-го варианта в обоих случаях снизилась вдвое, что свидетельствует о более сильном влиянии ингибитора на процессы синтеза и распада белков в эндоспермах этого варианта.

Таким образом, инфильтрация хлорамфеникола в ткани проростков способствует увеличению скорости включения меченого глицина в белки ростков и корешков 1-го варианта и в белки ростков 2-го варианта, при этом снижается поступление меченого предшественника в белки эндосперма 1-го варианта и в белки корешков 2-го варианта, на скорость включения метки в белки эндосперма 2-го варианта ингибитор не влиял. При проращивании семян на хлорамфениколе в течение 20 ч снижается скорость включения меченого глицина в белки ростков, корешков и эндосперма 1-го варианта и в белки корешков 2-го варианта, интенсивность поступления глицина в ростки и эндосперм 2-го варианта не изменяется.

На увеличение скорости включения ^3H -лейцина в белки цитоплазмы корней гороха при коротких экспозициях на хлорамфениколе указывают В. П. Илющенко и Н. Д. Тимашов [3]. Причем скорость включения метки зависела от обеспеченности растений бором. Н. Г. Аверина с соавторами [1] наблюдали увеличение скорости синтеза δ -аминолевулинатдегидратазы в зеленеющих проростках ячменя при проращивании на хлорамфениколе (концентрация 10—1000 мг/л). Применение хлорамфеникола в наших опытах позволило выявить влияние различных условий минерального питания в период выращивания на состав и свойства протеолитических ферментов при проращении семян.

Выводы

1. Проращивание семян пшеницы, сформировавшихся при различных условиях питания, показало, что ростки, корешки и эндосперм прорастающих зерновок, полученных без внесения удобрений, имели более высокую активность аминок- и эндопептидаз, чем проростки семян, выращенных в варианте с $\text{N}_{100}\text{P}_{60}\text{K}_{60}$.

2. При исследовании протеолитических ферментов отдельных органов проростков было установлено, что активность аминокпептидаз в ростках и корешках была выше при рН 6,0, а в эндосперме — при рН 3,5.

3. Под действием ингибитора белкового синтеза хлорамфеникола были выявлены заметные различия в аминок- и эндопептидазной активности как между отдельными органами проростков, так и между проростками семян, выращенных при различных условиях питания.

4. При проращивании семян на 0,05 %-ном растворе хлорамфеникола было обнаружено, что ингибитор белкового синтеза оказывал заметное воздействие на скорость снижения массы эндосперма и абсолютное содержание белкового и небелкового азота в ростках и кореш-

ках. Содержание белкового азота наиболее значительно снижалось в корешках 2-го варианта, а содержание небелкового азота — в ростках 1-го (без удобрений) и корешках 2-го вариантов.

5. Изучение белково-протеазного комплекса проростков пшеницы с использованием меченых изотопов и при разделении на ДЭАЭ-целлюлозе показало, что семена, выращенные при различных условиях питания, заметно различались по активности протеолитических ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аверина Н. Г., Поликарпова Н. Н., Шлык А. А. Влияние хлорамфеникола и циклогексимида на синтез δ-аминолевулинадегидратазы в зеленых и зеленющих проростках ячменя. — Биохимия, 1977, т. 42, вып. 11, с. 2064—2070. — 2. Гумилевская Н. А. Синтез белка в созревающих и прорастающих семенах. — В кн.: Растительные белки и их биосинтез. М.: Наука, 1975, с. 195—220. — 3. Илющенко В. П., Тимашов Н. Д. Изучение действия бора и хлорамфеникола на включение ³H-лейцина в белки корней гороха. — Физиология и биохимия культурных растений, 1978, т. 10, № 4, с. 422—426. — 4. Кирнос С. В. Азотный обмен на ранних этапах развития пшеницы сортов, различающихся по продуктивности. — Автореф. канд. дис. МГУ, 1977. — 5. Петербургский А. В. Практикум по агрономической химии. М.: Колос, 1968. — 6. Сафонова М. П. Изменение белков и протеолитических ферментов зерновки пшеницы при созревании и прорастании. — Автореферат. М., 1966. — 7. Хавкин Э. Е., Мазель Ю. Я. Влияние актидиона, пурмицина и хлорамфеникола на поглощение ³²P корнями кукурузы. — Физиология растения, 1970, т. 17, вып. 3, с. 452—457. — 8. Anson M. L. — J. Gen. Physiol., 1938, vol. 22, N 1, p. 79—86. — 9. Burger W. C., Prentice N., Moeller M., Kastenschmidt I. — Phytochemistry, 1970, vol. 9, N 1, p. 31—40. — 10. Young I. L., Varner I. E. Arch. Biochem. a. Biophys., 1959, vol. 84, p. 71.

Статья поступила 4 июня 1979 г.

SUMMARY

The activity of proteolytic enzymes of winter wheat during germination and their properties were studied with the help of different effectors. The effect of chloramphenicol on the activity of proteolytic enzymes and the speed of protein synthesis in different organs of the sprouts was also studied with the help of ¹⁴C-glycine. The effect of conditions of mineral nutrition on the properties and the activity of sprout enzymes is shown.