Доклады Академии наук СССР
1955. Том 102, № 3

БИОХИМИЯ

Г. И. СЕМЕНЕНКО

ОБ АКТИВНОСТИ РИБОНУКЛЕАЗЫ ПРОРАСТАЮЩИХ И СОЗРЕВАЮЩИХ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ И ГОРОХА

(Представлено академиком А. И. Опариным 17 II 1955)

Вопросы образования, перемещения и направленности действия ферментов в процессах прорастания и созревания семян широко изучены ([1-8] и др.). Изучению подвергались преимущественно ферменты, катализирующие гидролиз и синтез запасных питательных веществ семени и ферменты окислительно-восстановительных реакций. Нуклеиназы (полинуклеотидазы) высших растений, катализирующие превращение нуклеиновых кислот, изучены мало. В тканях животных организмов из этих ферментов более других изучена рибонуклеаза; ее препарат, полученный из поджелудочной железы рогатого скота, часто применяется в гистологических исследованиях для выявления в клетках и тканях рибонуклеиновой кислоты ([9]). У высших растений рибонуклеаза была изолирована из бобов сои ([12]), причем было показано, что ферментный экстракт из проросших семян сои более энергично расщепляет рибонуклеиновую кислоту дрожжей, чем экстракт из покоящихся семян.

В настоящей работе приводятся результаты изучения гидролитической активности рибонуклеазы в процессе прорастания и созревания семян яровой пшеницы Народная и гороха Уладовский № 208.

Таблица 1

Активность рибонуклеазы прорастающих семян пшеницы и гороха

Дни прорастания	Целые семена		Эндоспермы или семядоли		Ростки	
	мг P на 100 мг белк. N ферментного экстракта	мг P на 100 семян	мг P на 100 мг белк. N ферментного экстракта	мг P на 100 эндоспермов или семядолей	мг P на 100 мг белк. N ферментного экстракта	мг P на 100 ростков
Пшеница						
Покоящиеся семена	31,71	4,52	19,20	3,35	12,70	0,94
2	66,94	14,47	37,69	6,94	22,06	1,70
4	86,71	15,95	92,83	13,69	64,07	7,15
6	110,70	23,91	118,29	14,67	81,99	18,79
10	98,81	21,60	112,30	13,92	83,29	19,15
13	—	—	102,11	19,92	84,00	20,10
Горох						
Покоящиеся семена	3,14	18,75	—	—	—	—
2	4,18	27,74	—	—	—	—
4	9,17	38,80	—	—	—	—
6	9,87	33,32	5,94	23,77	21,54	11,13
10	—	41,07	7,44	28,54	22,56	14,86
13	—	—	12,79	26,71	35,59	23,49

Семена проращивались в темноте при 20°, в промытом и прокаленном песке, который поливался дестиллированной водой. По мере прорастания анализу подвергались целые семена и отдельные части: эндоспермы и ростки (зародыши), анатомически отделенные от эндосперма. Дни проращивания считались с момента намачивания семян. Анализируемые растения фиксации не подвергались. Для определения активности рибонуклеазы мы использовали в основном метод О. П. Чепинога (10), разработанный для изучения активности рибонуклеазы в тканях животных, применив его к растительным объектам.

Реакционная смесь в наших опытах составлялась следующая: 1 мл ацетатного буфера pH 6,4, 1 мл одночасового экстракта измельченной ткани прорастающих семян 1 : 10 (фермент) и 2 мл 0,4% водного раствора натриевой соли рибонуклеиновой кислоты, полученной из пивных дрожжей (субстрат); параллельно для контроля бралось: 1 мл ацетатного буфера pH 6,4 1 мл того же водного экстракта измельченной ткани прорастающих семян и 2 мл дестиллированной воды. Кроме того, контроль ставился с таким же составом реакционной смеси, как и опыт, но с предварительно прокипяченным ферментным экстрактом, в котором учитывалась возможная деполимеризация рибонуклеиновой кислоты без участия фермента. Смесь инкубировалась в течение 1 часа в водном термостате при 37°, после чего остаток недеполимеризованной кислоты в реакционной смеси и белковые вещества осаждались 4 мл 0,25% раствора уксуснокислого уранила, приготовленного на 5% трихлоруксусной кислоты. В фильтрате после осаждения определялся фосфор по Фиске — Субарроу (11). Активность рибонуклеазы выражалась по количеству найденного в опыте неосажденного фосфора, перечисленного на 100 мг белкового азота ферментного экстракта и параллельно на 100 зерен. Результаты анализа приведены в табл. 1.

Как и следовало ожидать (1, 2, 4), поведение рибонуклеазы в прорастающих семенах в основном сходно с поведением других ферментов. В первые дни прорастания семян пшеницы гидролитическая активность рибонуклеазы возрастает, затем достигает максимума и снижается. Максимум активности фермента в целых проростках и в эндоспермах приходится на 6 день прорастания.

В ростках (бравшихся вместе с корешками) нарастание активности рибонуклеазы продолжается и после снижения ее в эндоспермах, что указывает на перемещение фермента из эндоспермов в ростки, где происходят интенсивные процессы роста и новообразования клеток и меристематической ткани молодого растения. Об этом же свидетельствует и более высокий темп нарастания активности рибонуклеазы в ростках по сравнению с эндоспермами.

Так, например, на 6 день прорастания активность ее в ростках пшеницы, в пересчете на 100 ростков, возросла в 20 раз, а в эндоспермах в 4,3 раза по отношению к активности фермента в зародышах и эндоспермах покоящихся семян.

Аналогичное поведение рибонуклеазы наблюдается и в прорастающих семенах гороха.

Для изучения активности рибонуклеазы в созревающих семенах растения выращивались на опытном участке ботанического сада Харьковского государственного университета. В начале цветения на опытном участке отбирались растения, наиболее близкие по развитию, которые и употреблялись для анализа. Пробы для анализа брались с интервалами в несколько дней, начиная с окончания цветения и до полной спелости семян. Определение производилось в сыром, не фиксированном материале. Результаты сведены в табл. 2.

Из данных табл. 2 видно, что в первый период формирования и созревания семян гидролитическая активность рибонуклеазы нарастает. В семенах пшеницы максимум ее активности совпадает с концом мо-

лочной и началом восковой спелости. В фазе восковой спелости активность фермента снижается до минимума, который наступает в фазе полной спелости семян.

Таблица 2

Активность рибонуклеазы созревающих семян пшеницы и гороха

	Пшеница							Горох				
	18 VI	21 VI	24 VI	28 VI	3 VII	7 VII	12 VII	28 VI	30 VI	2 VII	5 VII	10 VII
Сухой вес 100 зерен в г	0,210	0,389	1,009	2,034	3,217	4,096	4,002	0,638	1,146	2,654	9,213	20,08
Мг Р на 100 мг белк. N ферментного экстракта	18,61	37,48	25,78	51,56	65,15	31,65	15,10	27,96	26,15	40,55	21,33	2,28
Мг Р на 100 зерен . .	0,59	1,84	3,82	9,75	14,48	8,76	2,11	0,82	7,71	27,01	20,63	14,86

В семенах гороха максимум нарастания активности рибонуклеазы наступает в более ранней фазе развития, и в период наиболее интенсивного нарастания сухого веса семян гидролитическая активность фермента снижается.

Следует указать на высокий темп нарастания активности рибонуклеазы завязавшихся семян в первые дни после цветения. Объясняется это, видимо, тем, что в этот период происходит энергичное деление ядер и клеток развивающихся эндосперма и зародыша семени, которое сопровождается усиленным притоком и обменом веществ, в том числе ферментов и нуклеиновых кислот.

На основании развитых в литературе представлений о передвижении и превращении ферментов в созревающих семенах ([2], [7]), а также полученных нами результатов можно полагать, что в процессе формирования и созревания семян пшеницы и гороха рибонуклеаза поступает в них вместе с питательными веществами из вегетативных органов растений и что до перехода в адсорбированное состояние в семени ее гидролитическая активность возрастает. Ослабление гидролитической активности по мере созревания семян связано с адсорбцией фермента на структурные образования клетки.

Харьковский государственный университет
им. А. М. Горького

Поступило
25 I 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] А. Н. Бах, А. И. Опарин, Сборн. Тр. по химии и биохимии, 1950, стр. 590, 597. [2] А. Н. Бах, А. И. Опарин, Р. А. Венер, там же, стр. 615. [3] А. И. Опарин, Н. Н. Дьячков, Дневник Всесоюзн. съезда ботаников в Ленинграде, 1928. [4] А. И. Опарин, С. Б. Каден, Биохимия, **10**, 25 (1945). [5] А. Курсанов, К. Брюшкова, Биохимия, **4**, 566 (1939). [6] А. Курсанов, К. Брюшкова, Биохимия, **5**, 681 (1940). [7] Н. М. Сисакян, А. М. Кобякова, ДАН, **57**, 591 (1947). [8] Н. М. Сисакян, Ферментативная активность протоплазменных структур, 1951. [9] Г. И. Роскин, Микроскопическая техника, 1951. [10] О. П. Чепинога, Е. Б. Сквирська и др., Укр. біох. журн., **24**, 2, 177 (1952). [11] А. Н. Белозерский, Н. И. Проскурякова, Практическое руководство по биохимии растений, 1951. [12] B. M. Schlamowitz, R. L. Garner, J. of Biol. Chem., **163**, No. 2, 487 (1946).