

УДК 577.158 + 581.143.2

БИОХИМИЯ

И. В. ЗЕЛЕНЕВА, Э. Е. ХАВКИН

ФОРМИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ГЛИКОЛИЗА ПРИ РАЗНОЙ СКОРОСТИ РОСТА КОРНЯ КУКУРУЗЫ

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 30 III 1973)

Увеличение активности гликолитических ферментов в растягивающихся клетках связано с новообразованием ферментных белков, опережающим их распад (¹, ²). Накопление белка (синтез минус распад) зависит от продолжительности фазы растяжения, т. е. обусловлено скоростью линейного роста корня (³⁻⁶). Такая зависимость может быть различной для нескольких ферментов, входящих в одну метаболическую систему, и тогда организация этой ферментной системы в зрелых клетках будет определяться скоростью растяжения клеток. Для изучения «истории» формирования ферментных систем можно сравнить последовательные участки зрелой части корня, клетки которых завершали растяжение с разной скоростью. Однако такой подход ставит перед нами новую задачу: мы ничего не знаем о том, что происходит с ферментными белками в зрелых клетках при дальнейшем увеличении их возраста (старении).

Таблица 1

Возрастные изменения содержания ферментов (на 100 отрезков — $38 \cdot 10^5$ клеток) и белка в клетках корня проростков

Возраст корня, часы	Фаза роста клеток и положение меток (расстояние от кон- чика, мм)	Длина от- резка, мм	Вес	Белковый азот	Раствори- мый белок	ГК	ФГК	ФПГ
			мг			нмол/мин		
48	Меристема *	—	37	0,37	1,6	28	3340	770
48	Начало растяже- ния (2—4)	2	226	0,90	3,0	163	6014	1288
54	Конец растяже- ния — начало зрелости (6—14)	8	949	1,37	5,4	297	10239	1483
60	Зрелость (21—30)	9	1322	1,67	5,2	385	11421	963
72	Зрелость (50—59)	9	1196	1,78	4,5	309	8836	842

* Большая часть клеток находится в интерфазе.

Возрастные изменения активности ферментов в одних и тех же зрелых клетках можно проследить, используя метки, поставленные тушью на корнях двухдневных проростков на расстоянии 2 и 4 мм от кончика. Для характеристики ферментной системы гликолиза мы выбрали три фермента — ГК, ФГК и ФПГ *. Обоснование этого выбора, а также техника проведения опыта и аналитические методы были описаны ранее (¹, ²). Сопоставим сырой вес, содержание белка и активность трех гликолитических фер-

* ГК — гексокиназа (2.7.1.1), ФГК — фосфоглицераткиназа (2.7.2.3) и ФПГ — фосфопируватгидратаза (энолаза) (4.2.1.11).

ментов в клетках зоны 2—4 мм (начало растяжения) и в тех же клетках спустя 6, 12 и 24 часа с показателями для эквивалентного числа меристематических клеток (табл. 1). Эти данные свидетельствуют о том, что за период растяжения накапливается около 70% от содержания всего белка и ФГК в зрелой клетке, более 90% ГК и почти 50% ФПГ. С окончанием роста клеток в длину накопление общего белка (по белковому азоту) практически прекращается, а уровень растворимого белка (белок ферментного экстракта), ГК и ФГК снижается на 10—20% за следующие 12 час. Активность ФПГ резко снижается в первые же часы старения зрелых клеток, однако дальнейшее падение уровня этого фермента идет с той же скоростью, что и у ГК и ФГК.

Таким образом, старение зрелых клеток корня сопровождается незначительным (1—2% в час) снижением активности изученных ферментов.

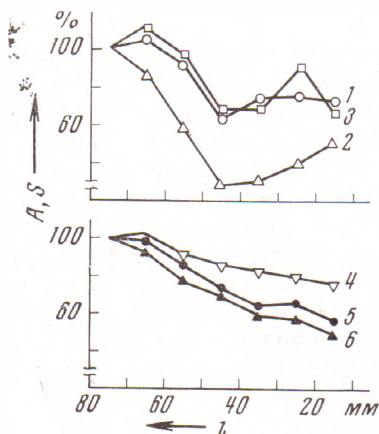


Рис. 1. Активность А ферментов гликолиза и содержание S сырого вещества и белка в последовательных 10-миллиметровых отрезках корня кукурузы (в % от величины для отрезка 70—80 мм). 1 — расстояние от кончика корня. 2 — ФГК, 3 — ФПГ, 4 — вес отрезка, 5 — растворимый белок, 6 — белковый азот

По-видимому, этим вкладом возрастных изменений в динамику ферментов можно пренебречь при сравнении зрелых клеток, которые различаются тем, что закончили растяжение при разной скорости роста корня.

Чтобы получить такой ряд зрелых клеток, воспользуемся следующим обстоятельством. Постоянная скорость роста корня устанавливается не сразу. В условиях наших опытов в период с 24 до 48 час. от момента замачивания длина корня увеличивается с 6 до 30 мм. После этого проростки переносят на влажную фильтровальную бумагу в чашки Петри. Скорость роста корня за следующие 12 час. достигает максимальной величины (2,6—2,8 мм/час) и сохраняется на этом уровне по крайней мере в течение последующих 60 час. (рис. 1). В корнях трехдневных проростков вычленили на расстоянии 10—80 мм от кончика семь последовательных 10-миллиметровых участков, состоящих из зрелых клеток, возраст которых от момента замачивания составлял 26—29 час.

Отрезки корня фиксировали сухой углекислотой для определения активности ферментов и содержания растворимого белка и спиртом — для определения количества белкового азота. Одновременно корни фиксировали по

Расстояние от кончика корня, мм	80—70	70—60	60—50	50—40	40—30	30—20	20—10
Возраст проростка (часы), при котором клетки данного отрезка завершили растяжение	26—36	36—46	46—53	53—57	57—61	61—65	65—69
Скорость роста корня в период растяжения клеток данного отрезка, мм/час	1,0	1,0	1,0—2,3	2,3	2,3—2,6	2,6—2,8	2,8
Средняя длина зрелых клеток, μ	194	202	219	219	238	226	205

Бродскому (³) для приготовления постоянных препаратов *. Увеличение скорости роста корня с 1 до 2,3 мм/час сопровождается небольшим, но статистически значимым увеличением длины коровых клеток.

Хотя первые деления в перицикле и одиночные зачатки боковых корешков отмечены на расстоянии 24 и 53 мм от кончика, вклад меристем боковых корней в общее содержание белка и ферментов настолько мал, что вряд ли следует принимать его во внимание. Количество клеток в последовательных 10-миллиметровых отрезках остается постоянным в пределах ошибки метода подсчета.

Полученные данные представлены на рис. 1 в сравнении с наиболее старым зрелым участком корня (70—80 мм от кончика) в относительных величинах, облегчающих сопоставление различных показателей. Абсолютные величины для 100 отрезков 70—80 мм следующие.

Вес, мг	1324	ГК, нмол/мин	206
Белковый азот, мг	2,06	ФГК	» 9096
Растворимый белок, мг	5,31	ФПГ	» 1641

В расчете на отрезок (что эквивалентно расчету на среднюю клетку) содержание сырого вещества и белка постепенно снижается от основания к кончику корня. Активность всех трех ферментов достигает минимума в отрезке 40—50 мм, особенно резко падает уровень ФПГ. Этот же минимум характерен для активности ФПК в расчете на белок и сырой вес. Удельная активность ФГК не изменяется, а ГК и ФПГ — резко увеличивается, когда скорость роста корня достигает максимального значения. Таким образом, динамика трех ферментов существенно различается, а временное снижение концентрации и активности ферментов происходит именно в переходный период, когда изменяется скорость роста корня. Сразу же после изменения условий прорастания в клетках одновременно ускоряется линейный рост и увеличение содержания сырого вещества, растворимого и общего белка, ГК и ФГК. Темпы накопления ГК и ФГК сначала выше, чем у белка и сырого веса, однако спустя 7—8 час. после переноса проростков в чашки увеличение активности ферментов отстает от накопления белка и воды. Достигнув максимального темпа при скорости роста корня 2,3 мм/час, накопление белка начинает отставать от ГК, и удельная активность этого фермента резко увеличивается. Скорость накопления ГК и ФГК продолжает увеличиваться вместе со скоростью роста корня. Своеобразна динамика ФПГ: накопление этого фермента при медленном росте корня замедляется лишь перед тем, как устанавливается максимальная скорость роста корня, темпы накопления ФПГ и белка становятся одинаковыми.

Таким образом, накопление ферментных белков гликолиза может по-разному зависеть от скорости роста клеток. Полученные нами данные можно сопоставить с нарушением координации внутри ферментных систем гликолиза и первичного обмена аминокислот, которое наблюдали при ускорении роста изолированных корней гороха (⁷), с изменениями в гликолитической системе ферментов у опухолевых клеток печени с разной скоростью роста (⁸) и с реорганизацией в системе митохондриальных ферментов в скелетных мышцах при упражнении (⁹). Среди изученных нами ферментов наиболее резко различается поведение ФГК и ФПГ, входящих в функционально связанный квинтет ферментов (¹): судя по данным, приведенным на рис. 1, соотношение этих ферментов в растягивающих клетках изменяется от 4,7 до 8,0, а в зрелых клетках, сформированных на последовательных этапах истории корня, увеличивается от 7,0 до 12,0,

* Гистологические исследования проведены Т. К. Литинской (Институт общей и неорганической химии Академии наук СССР, Москва). Авторы выражают ей искреннюю признательность.

а затем снижается до 6,5. Аналогичные наблюдения сделаны Ланге и др. (¹⁰, ¹¹) в опытах со «стареющей» паренхимой картофеля: при депрессии паренхимных клеток удельная активность ФПГ снижалась в 5 раз при неизменной активности двух других ферментов квинтета — триозофосфат-изомеразы и фосфоглицератмутаза.

Такая неустойчивость константной группы гликолиза — пяти функционально связанных ферментных белков — позволяет рассматривать эту константную группу как некоторое равновесное состояние, которое определяется подвижным соотношением скоростей синтеза и распада ферментных белков. Изменение скорости любого из двух этих процессов при торможении синтеза белка (²) или при резком изменении скорости роста корня сдвигает соотношение активностей ферментов константной группы.

Авторы благодарят член-корр. АН СССР Ф. Э. Реймерса за внимание к работе и Н. В. Обручеву за замечания при обсуждении рукописи, а также А. И. Антипину, Л. И. Лысенкову, А. Н. Лямкину, Е. В. Савостьянову и Л. В. Троценко за проведение вспомогательных анализов.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений
Сибирского отделения Академии наук СССР
Иркутск

Поступило
28 III 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ И. В. Зеленева, Э. Е. Хавкин, Онтогенез, 2, 311 (1971). ² И. В. Зеленева, Э. Е. Хавкин, ДАН, 208, 991 (1973). ³ В. Б. Иванов и др., Физиол. растений, 14, 785 (1967). ⁴ Н. В. Обручева, Физиология растущих клеток корня, М., 1965. ⁵ Э. Е. Хавкин и др., Физиол. растений, 14, 997 (1967). ⁶ Ф. Э. Реймерс, Э. Е. Хавкин, Физиол. растений, 17, 337 (1970). ⁷ L. J. Parekh et al., Phytochemistry, 8, 1167 (1969). ⁸ G. Weber, Naturwiss., 55, 418 (1968). ⁹ J. O. Holloszy et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 40, 1369 (1970). ¹⁰ H. Lange et al., Physiol. Plantarum, 24, 1 (1971). ¹¹ H. Lange et al., Biochem. Physiol. Pflanzen, 162, 427 (1971).