

РОЛЬ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В МЕХАНИЗМАХ ПРОРАСТАНИЯ ЗЕРЕН ПШЕНИЦЫ

Ключевые слова: зерна пшеницы, антиоксиданты, перекисное окисление липидов, аскорбиновая кислота.

Введение

В живых организмах постоянно протекают окислительно-восстановительные реакции с участием кислорода, при избытке которого в клетках образуются активные формы кислорода (АФК): O_2^- , H_2O_2 , $HO\cdot$, $HOCl$ и др. [1]. Содержание АФК контролируется компонентами антиоксидантной системы (АОС), в составе которой – низко- и высокомолекулярные антиоксиданты (АО) [2]. Особое значение имеет АОС для организмов, находящихся в состоянии вынужденного покоя. Так, семена злаковых культурных растений в отсутствие воды и при низкой температуре находятся в состоянии гипобиоза, но сохраняют высокую жизнеспособность. В состоянии покоя в зерновках понижается содержание воды до 5-8%, ослабляется дыхательная активность митохондрий, но сохраняется высокая активность оксидоредуктаз, в особенности пероксидазы (ПО) [3]. Фермент входит в состав антиоксидантной системы и совместно с низкомолекулярными антиоксидантами, обеспечивает высокую резистентность клеток к действию АФК, регулируя уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в живых организмах [4]. Однако с возрастанием оводненности в зерновках активируются основные метаболические процессы и повышается дыхание до максимального уровня, характеризующие их рост и развитие [5]. Набухание и прорастание семян всегда сопровождается активированием оксидазных процессов. Период прорастания делится на три этапа: 1) активация метаболизма (этап физического набухания); 2) подготовка к началу роста растяжением (наклевание семян за счет перехода к растяжению клеток осевых органов зародыша); 3) собственно рост органов проростка [6].

В зерновках пшеницы существует физиологически нормальный уровень сво-

боднорадикальных процессов и перекисного окисления липидов, необходимый для регулирования липидного состава, проницаемости мембран и ряда биосинтетических процессов. Контроль за содержанием АФК в семенах осуществляют антиоксиданты, среди которых важное значение имеет аскорбиновая кислота (АК), обладающая высокой антиокислительной активностью в клетках живых организмов [7]. В генерировании свободных радикалов может принимать участие и пероксидаза. Однако иницирующая роль фермента в процессах прорастания семян практически не изучена.

Аскорбиновая кислота является одним из низкомолекулярных антиоксидантов живых организмов. Специализированным ферментом окисляющим аскорбиновую кислоту служит аскорбатоксидаза (КФ 1.10.3.3). Однако участие аскорбиновой кислоты в оксидазных и пероксидазных реакциях, протекающих в присутствии пероксидазы, практически не изучены. Хотя известно, что пероксидаза способна катализировать реакции оксидазного и пероксидазного окисления субстратов неорганической и органической природы. Наличие у фермента двух различных функций (оксидазной и пероксидазной) позволяет предположить, что в каталитическом действии фермента могут принимать участие два независимых активных центра, пространственно разделенных, хотя и близко расположенных друг от друга на поверхности белковой глобулы [8]. Такая полифункциональность пероксидазы модулируется ионами металлов и состоянием микросреды вблизи молекулы фермента [9]. При этом идентификация пероксидазного и оксидазного участков фермента затруднена из-за недостаточности количественных данных о деталях структуры пероксидазы и ее молекулярной неоднородности [3].

Широкое распространение пероксидазы в растительных и животных тканях позволяет говорить, что этот фермент выполняет многогранную работу в биоген-

ных системах. Исследование структуры и механизма действия пероксидазы представляет не только теоретический интерес для понимания физиологической роли и принципов функционирования фермента в растительных тканях, но и позволяет установить взаимосвязь в действии пероксидазы и низкомолекулярных антиоксидантов, которые могут быть субстратами фермента. Кроме того, в литературе активно изучается роль антиоксидантов в функционировании антиоксидантной системы растительных клеток, с возможностью выявить регуляторные механизмы [10-12].

Поэтому целью наших исследований было изучить процессы перекисного окисления липидов и состояние компонентов АОС в период набухания и прорастания зерновок пшеницы, а также механизмы окисления аскорбиновой кислоты в присутствии пероксидазы в широком интервале рН и предложить возможный механизм действия фермента в этих реакциях.

Экспериментальная часть

Исследования проводили на зерновках пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Приленская 19, которые замачивали в дистиллированной воде в течение 24 ч, а затем проращивали на фильтровальной бумаге в чашках Петри при 23°C на свету в течение 7 сут., смачивая их дистиллированной водой (10 мл на чашку Петри). Количество семян в одной чашке – 100 шт., повторность опыта – 4-кратная.

Для анализа продуктов тиобарбитуровой кислоты (ТБК) и антиоксидантов 1 г сырой массы проростков гомогенизировали в фарфоровой ступке с 3 мл 50%-ного этанола, гомогенат центрифугировали 10 мин. при 7000 г. Супернатант для исследования активности пероксидазы получали аналогично, используя 0,1 М Na-фосфатный буфер, рН 7,0.

Содержание малонового диальдегида (МДА) исследовали по реакции с тиобарбитуровой кислотой при 532 нм ($\epsilon=155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [1]) с нашими модификациями [13]. К 0,5 мл супернатанта последовательно добавляли 0,5 мл 1%-ного раствора тритона X-100, 0,2 мл 0,6 М HCl и 0,8 мл 0,06 М ТБК. Смесь нагревали на кипящей водяной бане 10 мин. Охлаждение проводили при температуре 15°C 30 мин. Для стабилизации окраски добавляли 0,2 мл 5 мМ трилона Б и 5-10 мл 96%-ного этанола. Контролем служила пробирка, в которую добавляли те же растворы, кроме ТБК. Содержание МДА

в проростках выражали в нмоль/г сухой массы.

Анализ антиоксидантов проводили по методике [14]. К 0,2 мл супернатанта последовательно добавляли 0,2 мл 0,5%-ного о-фенантролина в 96%-ном этаноле и 0,2 мл 0,2%-ного FeCl₃ в 96%-ном этаноле. Затем объем доводили до 3 мл 96%-ным этанола и выдерживали 10 мин. в темноте. Определение антиоксидантов проводили по калибровочному графику, построенному для кверцетина. Количество антиоксидантов, содержащихся в проростках, рассчитывали в мг/100 г сухой массы [15].

Определение содержания аскорбиновой кислоты проводили по методике [16]. В опытную пробирку последовательно вносили 1 мл фильтрата, 2,8 мл 0,1 М цитратного буфера рН 3,69, 0,05 мл 0,03 М K₃[Fe(CN)₆], 0,05 мл 0,476 М NaF, 0,1 мл 0,074 М FeCl₃. Смесь выдерживали в течение 5 мин, после чего спектрофотометрировали при 700 нм. В качестве контроля использовали растворы, которые исключали фоновое поглощение опытных растворов. Содержание аскорбиновой кислоты рассчитывали в мг на 1 г сухой массы.

Активность пероксидазы определяли при 22°C по начальной скорости окисления в их присутствии о-дианизидина перекисью водорода [17]. К 2,5 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера (рН 7,0), добавляли 0,2 мл раствора супернатанта и 0,1 мл 0,43 мМ раствора о-дианизидина в 96%-ном этаноле. Реакцию инициировали введением 0,1 мл 16 мМ перекиси водорода. Увеличение поглощения раствора регистрировали при 460 нм ($\epsilon = 30 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [17]) для продукта окисления о-дианизидина, после быстрого перемешивания реагентов. За единицу активности фермента принимали количество о-дианизидина (мкмоль), окисленного за 1 мин. 1 г сухой массы.

Спектрофотометрические исследования проводили на двулучевом спектрофотометре DMS 100 S («Varian», США). В работе использовали этанол, очищенный перегонкой, о-дианизидин марки «ч.», очищенный возгонкой в вакууме, перекись водорода (30 % водный раствор) и антиоксиданты марки «о.ч.». Статистическую обработку данных проводили по Лакину [18].

Результаты и их обсуждение

Нами изучены показатели уровня ПОЛ, содержание антиоксидантов и активность

пероксидазы в различных частях зерновок после их замачивания в течение 24 ч в дистиллированной воде (табл. 1). Видно, что активность пероксидазы в различных частях зерновок резко различается. Наибольшая активность фермента отмечается в зародыше, а затем в щитке, эндосперме и перикарпе. Причем активность пероксидазы в зародыше была в 2,14, 5,5 и 6,16 раза выше, чем в щитке, эндосперме и перикарпе соответственно. Содержание МДА в щитке и зародыше практически не отличалось, но было выше в 1,4-1,8 раза по сравнению с эндоспермом и перикарпом. Однако наибольшие отличия наблюдались в содержании антиоксидантов. При этом в зародыше содержание антиоксидантов было в 3,12 раза больше, чем в щитке и в 10,3 и 12,1 раза выше, чем, соответственно, в эндосперме и перикарпе.

Таким образом, в зародыше и щитке проявляется самая высокая активность компонентов АОС, контролирующих уровень ПОЛ в этих частях зерновок. Поэтому мы в дальнейшем изучили динамику активности пероксидазы, а также содержание антиоксидантов и МДА в зародыше и щитке в процессе набухания зерновок пшеницы (табл. 2). Из таблицы 2 следует, что между компонентами АОС зародыша в течение 24 ч набухания зерновок наблюдается взаимная зависимость, проявляемая в том, что в ответ на возрастание уровня ПОЛ отмечается рост содержания антиоксидантов ($r = 0,86$) и активность пероксидазы ($r = 0,79$).

При этом в щитке уровень ПОЛ и содержание антиоксидантов находились в обратной зависимости ($r = -0,87$), а активность пероксидазы коррелировала с ростом содержания МДА ($r = 0,62$). Повидимому, в клетках щитка в период набухания процессы перекисного окисления липидов уже активно регулируются антиоксидантами, возрастание содержания которых является условием подавления протекания свободно-радикальных процессов в этой части зерновок ($r = -0,49$).

Возможно, в этом проявляется регуляторный механизм, обеспечивающий нарушение избирательного транспорта функционально активных веществ через щиток. При этом из эндосперма в зародыш начинают активно поступать регуляторы роста, обеспечивающие прорастание зерновок пшеницы.

Процесс набухания зерновок завершается при достижении 45-55% влажности и после проклеивания зерновки приобретают хорошо развитую корневую систему и надземную часть (зеленые семядоли). Поэтому нами было исследованы динамика содержания МДА и антиоксидантов, а также активность пероксидазы в корнях и зеленых семядолях проростков пшеницы (табл. 3). Видно, что в процессе прорастания содержание антиоксидантов в корнях и зеленых семядолях снижается соответственно в 10,4 и 1,7 раз. При этом активность пероксидазы в корнях возрастает в 1,95 раза, а в надземной части – в 1,5 раза. Полученные данные свидетельствуют о том, что в корневой системе регулятором уровня ПОЛ преимущественно служит пероксидаза, а надземной части – низкомолекулярные антиоксиданты. Последних в надземной части проростков пшеницы больше, чем в корнях в 1,5-5,4 раза. Причем в корнях между антиоксидантами, уровнем ПОЛ и активностью пероксидазы наблюдается обратная зависимость ($r = -0,88$ и $r = -0,89$), а между содержанием МДА и активностью пероксидазы прямая зависимость ($r = 0,95$). В надземной части проростков пшеницы содержание МДА находится в обратной зависимости от содержания антиоксидантов ($r = -0,69$) и активности пероксидазы ($r = -0,91$). При этом устанавливается корреляция между активностью пероксидазы и уровнем ПОЛ ($r = 0,44$). Эти данные свидетельствуют о том, что в зеленых семядолях процесс ПОЛ регулируется преимущественно за счет антиоксидантов, высокая концентрация которых может регулировать активность пероксидазы.

Таблица 1

Содержание АО, МДА и активность ПО в различных частях зерновок пшеницы после 24 часов замачивания в дистиллированной воде

Части зерновок	ПО, мкмоль/г сухой массы	МДА, нмоль/г сухой массы	АО, мкг/г сухой массы
Сухое зерно	3,60±0,25	2,8±0,1	18,3±0,8
Перикарп	25±2	25,5±1,6	276,2±13,4
Эндосперм	28±3	20,7±1,3	324,3±11,3
Щиток	63±5	36,5±1,8	1070±50,8
Зародыш	154±12	33,2±1,4	3340±223,5

Таблица 2

Содержание антиоксидантов (мг/г сухой массы), МДА (нмоль/г сухой массы) и активность пероксидазы (мкмоль/мин. г сухой массы) в зародыше и щитке зерновок пшеницы в процессе набухания

Время набухания зерновок, ч	Зародыш			Щиток		
	АО	МДА	ПО	АО	МДА	ПО
2	1,23±0,06	10,03±0,56	82±5,4	2,56±0,16	5,23±0,32	27±1,3
4	1,35±0,08	11,12±0,64	100±6,2	3,84±0,25	7,42±0,56	42±2,1
6	1,46±0,09	12,64±0,74	110±7,5	3,01±0,19	6,54±0,48	57±2,7
8	1,56±0,06	15,95±0,86	126±8,3	2,94±0,15	9,42±0,78	68±3,6
10	2,41±0,12	18,47±0,93	130±9,6	2,62±0,13	9,85±0,86	82±4,3
12	1,46±0,08	21,02±0,96	133±9,8	2,45±0,12	16,43±1,12	75±3,8
14	2,23±0,11	21,04±0,95	106±7,1	2,27±0,11	27,76±1,25	89±4,6
16	3,34±0,18	22,28±0,92	126±9,6	2,08±0,09	27,43±1,22	86±4,4
18	3,37±0,21	22,67±1,08	135±11,8	1,81±0,08	29,48±1,34	100±6,2
20	3,48±0,24	27,63±1,12	140±12,5	1,84±0,08	31,44±1,42	73±5,3
22	3,43±0,19	29,74±1,32	122±7,9	1,65±0,06	32,73±1,56	84±4,5
24	3,34±0,22	33,25±1,42	154±12,2	1,07±0,05	36,52±1,87	63±3,3

Таблица 3

Содержание МДА (нмоль/г сухой массы), антиоксидантов (мкг/г сухой массы) и активность пероксидазы (мкмоль/мин. г сухой массы) в корнях и надземной части проростков пшеницы

Время прорастания, сут.	Корни			Надземная часть		
	МДА	АО	ПО	МДА	АО	ПО
2	128±5,6	546±32	140±9	215±16	824±76	38±0,3
3	108±4,8	956±84	130±8	226±18	764±56	32±0,2
4	158±6,8	395±28	160±11	343±26	533±48	56±0,4
5	144±6,1	137±7	165±12	318±21	510±37	63±0,5
6	164±7,8	116±6	180±15	284±24	554±51	68±0,5
7	178±9,7	92±3	200±19	236±20	498±35	74±0,6

Таблица 4

Содержание аскорбиновой кислоты (мг/100 г сухой массы, (%)) в зерновках и проростках пшеницы во время прорастания

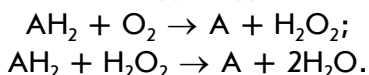
Время прорастания, сут.	Зерновки		Проростки	
	непроросшие	проклюнувшиеся	корни	надземная часть
Контроль (сухие)	15,2±0,5 (100)	-	-	-
1	24,8±0,8 (163)	-	-	-
2	26,4±0,9 (174)	22,4±0,8 (147)	-	-
3	26,8±0,9 (176)	19,2±0,6 (126)	3,8±0,2 (25)	7,2±0,3 (47)
4	23,6±0,6 (155)	8,0±0,3 (53)	3,6±0,2 (24)	4,0±0,2 (26)

Таким образом, установлено взаимное влияние пероксидазы и низкомолекулярных антиоксидантов при прорастании зерновок пшеницы. В процессе метаболиза-

ции антиоксидантов изменяется их концентрация, что проявляется в регулировании активности пероксидазы и осуществлении общего контроля над деятельностью

АОС. Взаимное влияние низко- и высокомолекулярных антиоксидантов обусловлено особенностью механизма действия пероксидазы, способностью фермента катализировать реакции окисления различных биогенных соединений, среди которых может быть аскорбиновая кислота.

К низкомолекулярным антиоксидантам биогенных систем относятся аскорбиновая кислота, гидрохинон, токоферолы, кверцетин, дигидрокверцетин и др. Выраженным антиокислительным действием в живых организмах обладает аскорбиновая кислота [7]. Поэтому мы изучили содержание АК в процессе прорастания зерновок пшеницы (табл. 4). Высокое содержание АК отмечается в покоящихся зерновках, тогда как в проклюнувшихся и проросших зерновках содержание АК понижается, что, по-видимому, обусловлено расходом антиоксиданта в окислительных реакциях, некоторые из них катализируют аскорбатоксидаза и пероксидаза. Последняя катализирует реакции оксидазного и пероксидазного окисления различных органических соединений, среди которых может быть и АК. Инициатором оксидазных реакций пероксидазы является кислород, а пероксидазных – перекись водорода. Последовательное протекание этих реакций позволяет снижать избыточные концентрации кислорода в клетках, восстанавливая его до воды:



Аскорбиновая кислота является одним из наиболее широко распространенных в живых организмах антиоксидантом. Окисление АК катализируют различные оксидазы растительных клеток, в том числе и пероксидаза. Продуктом этих реакций служит дегидроаскорбиновая кислота.

Сродство АК к активному центру пероксидазы может характеризоваться величинами констант Михаэлиса-Ментен (K_m) и каталитическими константами (k_{cat}). В случае использования в исследованиях неочищенного фермента, характерной величиной может быть величина максимальной скорости (V_m), рассчитанная на грамм сухой массы.

Участие АК в оксидазных и пероксидазных реакциях были изучены нами, используя очищенную форму фермента ($RZ = 1,0$). Показано, что окисление АК в оксидазных и пероксидазных реакциях протекает по схожим механизмам.

В стационарных условиях начальная скорость оксидазного окисления аскорби-

новой кислоты подчиняется уравнению Михаэлиса-Ментен. Зависимости начальных скоростей оксидазного и пероксидазного окисления АК от ее концентрации в двойных обратных координатах были изучены при pH 3,5-8,0. При этом на зависимостях начальных скоростей от концентрации АК наблюдался излом, который сохраняется и при варьировании концентрации фермента (рис. 1, 2). Наличие таких зависимостей начальных скоростей может свидетельствовать о том, что в активном центре фермента могут связываться несколько молекул АК. При этом как оксидазное, так и пероксидазное окисление АК зависит от числа молекул субстрата, взаимодействующих с окисленными формами фермента (E_1 и E_2) и при связывании двух молекул АК наблюдается активирование фермента, обусловленное высокими концентрациями субстрата.

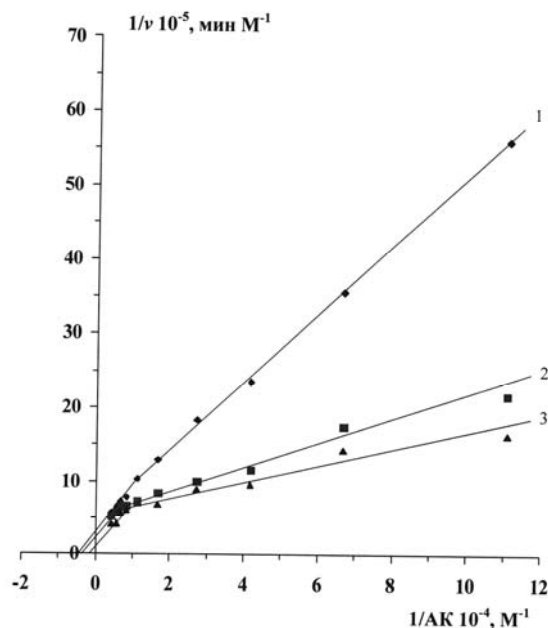


Рис. 1. Зависимости начальных скоростей оксидазного окисления аскорбиновой кислоты в координатах Лайнуивера-Берка при pH 3,5 (1), 6,0 (2), 7,0 (3) в присутствии пероксидазы. Концентрации: пероксидаза – 16 нМ; аскорбиновой кислоты – 9-240 мкМ; 0,1 М натрий-фосфатный буфер, pH 7,0, 0,1 М натрий-ацетатный буфер, pH 3,5 и 6,0

В обеих реакциях АК проявляет себя как медленно окисляемый субстрат пероксидазы (табл. 5, 6). Связывание одной молекулы АК с E_1 достаточно прочное, поскольку величины K_{m1} составляли для оксидазной реакции 24-333 мкМ, а пероксидазной – 6,1-11,5 мкМ. Эти значения констант Михаэлиса соизмеримы с величинами констант связывания быстро-

окисляемого субстрата пероксидазы о-дианизида, у которого K_m при pH 3,9-7,0 составляет 11-20 мкМ [17]. Дополнительное связывание двух молекул АК хуже в оксидазном процессе в 2,8-17,7 раза, а в пероксидазном – в 40-50 раз. Причем K_m связывания субстрата с окисленными формами фермента мало зависело от pH в пероксидазных реакциях (табл. 6). Высокие концентрации АК (264-352 мкМ) ингибировали фермент.

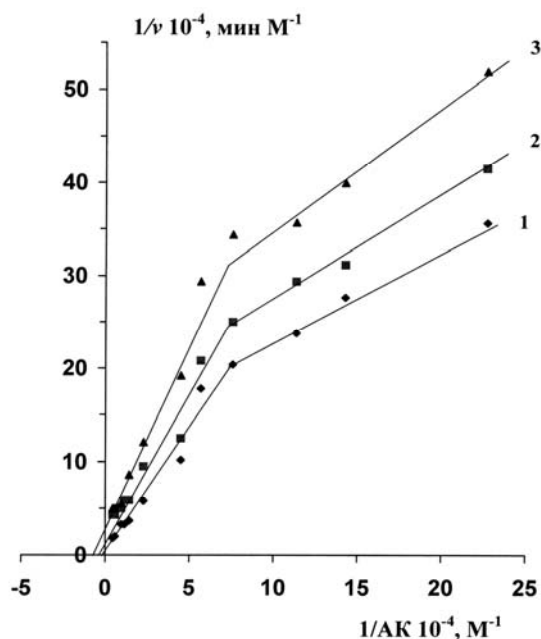
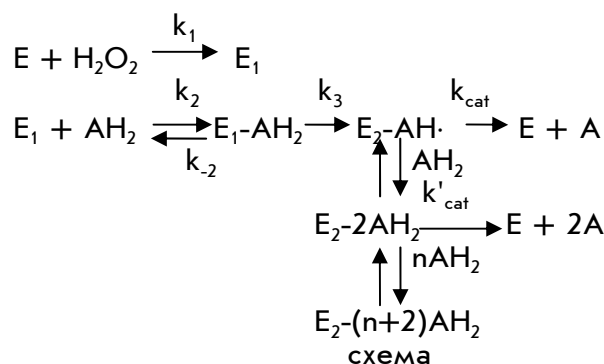


Рис. 2. Зависимости начальных скоростей пероксидазного окисления аскорбиновой кислоты от ее концентрации в координатах Лайнуивера-Берка. pH 5,0-1, 5,5-2, 6,0-3; пероксидаза – 0,1 мкМ; перекись водорода – 0,64 мМ; аскорбиновая кислота – 2,2-220,0 мкМ

Для объяснения активации пероксидазы в реакциях оксидазного и пероксидазного окисления АК была предложена следующая схема ферментативных реакций:



где E, E₁, E₂ – исходный фермент и его промежуточные соединения 1 и 2;

AH₂ – аскорбиновая кислота;

E₁-AH₂, E₂-AH·, E₂-2AH₂, E₂-(n+2)AH₂ – комплексы одной, двух и (n + 2) молекул аскорбиновой кислоты с промежуточными соединениями E₁ и E₂, k₁, k₂, k₃, k_{cat} и k'_{cat} = β · k_{cat} – каталитические константы.

Схема предполагает, что оксидазное и пероксидазное окисление АК осуществляется, если с окисленными формами фермента (E₁ и E₂) связывается одна или две молекулы АК. При связывании двух молекул субстрата наблюдается активирование фермента (β > 1).

Исследование каталитических свойств неочищенной пероксидазы зерновок и проростков пшеницы позволило установить, что величины K_m и k_{cat} с возрастанием pH понижаются, характеризуя возрастание сродства активного центра фермента к субстрату, но понижение эффективности его превращения (табл. 7). По-видимому, в нейтральных pH АК лучше связывается с ферментом, но медленно превращается, тогда как в кислых pH связывание субстрата ухудшается, но ускоряется его превращение. Особенно это видно для пероксидазы надземной части проростков пшеницы.

Таблица 5

Величины каталитических констант реакций оксидазного окисления аскорбиновой кислоты в присутствии пероксидазы в присутствии пероксидазы хрена

pH	K_{m1} , мкМ	K_{m2} , мкМ	k_{cat} , с ⁻¹	k'_{cat} , с ⁻¹	β
3,5	333±18	1552±70	59,3±1,5	62,5±2,5	1,1
4,0	94±6	1667±86	28,5±0,9	36,0±2,23	1,3
4,5	200±10	714±35	8,0±0,3	16,7±1,22	2,1
5,0	60±3	417±20	3,6±0,2	10,4±1,13	2,9
5,5	26±2	360±15	2,0±0,1	8,6±0,5	4,3
6,0	24±2	147±6	1,8±0,1	3,2±0,16	1,8
6,5	36±3	270±12	2,4±0,2	4,9±0,26	2,0
7,0	20±1	250±11	1,8±0,2	5,2±0,28	2,9
7,5	71±3	182±9	2,2±0,2	4,3±0,22	1,9
8,0	100±8	222±10	2,6±0,2	4,6±0,23	1,8

Таблица 6

Величины каталитических констант для пероксидазного окисления аскорбиновой кислоты в присутствии пероксидазы хрена

pH	K_{m1} , мкМ	K_{m2} , мкМ	k_{cat} , с ⁻¹	k'_{cat} , с ⁻¹	β
4,0	-	420±34	-	24,7±2,1	-
4,5	-	380±28	-	20,2±2,0	-
5,0	9,7±0,4	340±31	2,1±0,12	17,6±1,5	8,4
5,5	10,8±0,5	170±12	1,9±0,11	6,8±0,3	3,5
6,0	6,1±0,3	190±10	1,1±0,11	8,4±0,9	7,6
6,5	-	150±13	-	4,0±0,2	-
7,0	11,5±0,4	230±18	1,1±0,10	3,7±0,1	3,4
8,0	-	97±7	-	3,8±0,1	-

Таблица 7

Величины K_m (мкМ), V_m (мкмоль/мин. г сухой массы) и $k_{кат}$ (с⁻¹) реакций пероксидазного окисления аскорбиновой кислоты, катализируемых пероксидазой зерен и 7-суточных проростков (надземная часть и корни) пшеницы

pH	Сухое зерно		Проростки пшеницы			
			надземная часть		корни	
	K_m	V_m	K_m	V_m	K_m	V_m
5,0	38±2	2,9±0,11	263±12	55±3,4	33±2	25±2,2
5,5	35±2	2,0±0,09	161±9	28±2,3	27±2	21±1,7
6,0	30±2	1,7±0,35	33±2	8±0,4	11±1	16±1,2
7,0	26±1	1,3±0,04	24±1	9±0,3	12±1	15±1,0

Таким образом, пероксидаза способна катализировать реакции оксидазного и пероксидазного окисления АК, которые протекают с участием, соответственно кислорода и перекиси водорода. Последовательность реакций позволяет восстанавливать кислород до воды. В этих реакциях аскорбиновая кислота проявляет себя как медленно окисляемый субстрат фермента. При этом низкие концентрации АК инициируют процесс окисления, а возрастание содержания АК активизирует пероксидазу, тогда как высокие концентрации субстрата способны ингибировать фермент.

Поэтому в действии пероксидазы заложен сложный регуляторный механизм, обеспечивающий контроль за высокими концентрациями как кислорода, так и перекиси водорода. В реализации этого механизма могут участвовать различные биогенные соединения, способные в результате реакций окисления донировать электроны и протоны на восстановление кислорода и перекиси водорода. В этом действии пероксидазы активную роль в зерновках пшеницы играет и АК, регулирующая активность фермента.

Заключение

Возрастание ПОЛ в процессе набухания и прорастания зерновок обусловлено повышением дыхательной активности митохондрий в связи с поступлением воды в зерновки. В ответ на это в клетках активизируется синтез компонентов антиоксидантной системы, среди которых аскорбиновая кислота и пероксидаза. Между компонентами антиоксидантной системы устанавливается взаимосвязь и взаимозависимость, в основе которых контроль за уровнем перекисного окисления в клетках проростков пшеницы. При этом динамика ПОЛ регулируется синтезом низкомолекулярных антиоксидантов, среди которых важное значение имеет аскорбиновая кислота, окисляющаяся как в оксидазных, так и пероксидазных реакциях, катализируемых пероксидазой. Участие аскорбиновой кислоты в реакциях пероксидазы позволяет предположить, что АК может на начальных этапах прорастания зерновок пшеницы индуцировать процесс синтеза фермента как в клетках покоящихся, так и прорастающих зерновок. В покоящихся зерновках пероксидаза способна участвовать в генерации воды, катализируя реакции последовательного восстановления

кислорода и перекиси водорода до воды. Кроме того, высокая активность пероксидазы в прорастающих зерновках свидетельствует о том, что фермент способен выполнять регуляторную функцию по контролю за накоплением активных форм кислорода, удаляя их избыток в активно делящихся клетках проростков пшеницы.

Библиографический список

1. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с.

2. Зенков Н.К. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах. / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньщикова // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113. – № 3. – С. 286-296.

3. Андреева В.А. Фермент пероксидаза. Участие в защитном механизме растений. / В.А. Андреева. – М.: Наука, 1988. – 129 с.

4. Рогожин В.В. Изменение реакции антиоксидантной системы проростков пшеницы после ультрафиолетового облучения семян / В.В. Рогожин, Т.Т. Курилук, Н.П. Филиппова // Биофизика. – 2000. – Т. 45. – № 4. – С. 730-736.

5. Николаева М.Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян / М.Г. Николаева, М.В. Разумова, В.Н. Гладкова. – Л.: Наука, 1985. – 347 с.

6. Обручева Н.В. Общность физиологических механизмов подготовки к прорастанию у семян с различным типом покоя / Н.В. Обручева, О.В. Антипова // Физиология растений. – 1999. – Т. 46. – № 3. – С. 426-431.

7. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте / Е.Б. Бурлакова, А.В. Алесенко, Е.М. Молочкина, Н.М. Пальмина, Н.Г. Храпова. – М.: Наука, 1975. – 241 с.

8. Gibson D.M. The inhibition of peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase activity by British antilewisite / D.M. Gibson, E.H. Lin // Arch. Biochem. Biophys. – 1978. – V. 186. – № 3. – P. 317-324.

9. Pang A. On substrate specificity of peroxidases involved in the lignification process / A. Pang, A.-M. Catesson, C. Francesch, C. Rolando, R. Goldberg // J. Plant Physiol. – 1989. – V. 135. – № 2. – P. 325-331.

10. Олениченко Н.А. Влияние экзогенных фенольных соединений на перекисное окисление липидов у растений пшеницы / Н.А. Олениченко, Е.С. Городкова, Н.В. Загоскина // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 3. – С. 58-61.

11. Лубсандаржиева П.Б. Биологически активные вещества и антиоксидантная активность *in vitro* полиэкстракта *Lomatogonium carinthiacum (wulfen) A.BR* / П.Б. Лубсандаржиева // Химия растительного сырья. – 2008. – № 1. – С. 101-105.

12. Сыроева М.А. Исследование золя водных извлечений чаги, XII. Осаждение дисперсной фазы водного извлечения чаги при изменении рН среды / М.А. Сыроева, В.Р. Хабибрахманова, В.С. Гамаюрова, Н.К. Шаехова, Ф.Г. Халитов // Химия растительного сырья. – 2009. – № 1. – С. 131-135.

13. Рогожин В.В. Влияние ультрафиолетового облучения семян на процессы перекисного окисления липидов в проростках пшеницы / В.В. Рогожин, Т.Т. Курилук // Биохимия. – 1996. – Т. 61. – № 8. – С. 1432-1439.

14. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.

15. Рогожин В.В. Практикум по биологической химии / В.В. Рогожин. – СПб.: ГИОРД, 2006. – 256 с.

16. Методы биохимического анализа растений / под ред. В.В. Полевого, Г.Б. Максимова. – Л.: ЛГУ, 1978. – С. 133-135.

17. Лебедева О.В. Кинетическое изучение реакции окисления о-дианизидина перекисью водорода в присутствии пероксидазы из хрена / О.В. Лебедева, Н.Н. Угарова, И.В. Березин // Биохимия. – 1977. – Т. 42. – № 8. – С. 1372-1379.

18. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.

