

УДК581.1; 634.8; 633.11

## АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ОБМЕНА ГЛУТАМИНА В ПРОРАСТАЮЩЕМ ЗЕРНЕ ТРИТИКАЛЕ

Л.В. ЧУМИКИНА<sup>1</sup>, Л.И. АРАБОВА<sup>1</sup>, В.В. КОЛПАКОВА<sup>2</sup>, А.Ф. ТОПУНОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук  
119071 Москва, Ленинский просп., 33  
e-mail: chumikina@mail.ru

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет пищевых производств»  
125080 Москва, Волоколамское шоссе, 11

Установлено, что в процессе прорастания зерна тритикале значительно повышалась активность ключевых ферментов азотного метаболизма — глутаматдегидрогеназы (ГДГ с НАДН), глутаминсинтетазы (ГС), глутаминазы. В наибольшей степени этот показатель повышался в зародышевой части зерна. Активность ГС в зародышах сухих семян была почти в 3 раза выше, чем в эндосперме. При набухании семян удельная активность ГС зародышей резко возрастала к 24 ч и дальше почти не изменялась, что характерно для фермента, играющего перво-степенную роль в период перестройки метаболизма. В эндосперме активность ГС плавно повышалась вплоть до 72 ч набухания, но к этому времени оставалась в 1,5 раза ниже активности ГС в зародышах. Удельная активность ГДГ зародыща всегда в 2—3 раза превышала активность эндосперма — запасавшей части зерна, где метаболические процессы проходят с меньшей скоростью. Следовательно, при набухании и на ранних стадиях прорастания зерна тритикале активность ферментов обмена глутамина сосредоточена главным образом в зародыше зерна. Выявлена зависимость активности ферментов в тканях от времени набухания зерна и исследуемой его части.

*Ключевые слова:* *Triticosecale* Wittm. & A. Camus, зародыш, эндосперм, прорастание, глутаминаза, глутаматдегидрогеназа, глутаминсинтетаза.

Культура тритикале (гибрид пшеницы и ржи) завоевывает все большее признание во многих странах как потенциальный источник увеличения производства продовольственного и фуражного зерна. Особая ценность белка тритикале заключается в высоком содержании в нем лизина (на 15—30 % больше, чем у пшеницы), сбалансированности аминокислотного состава, близкой к идеальной, и меньшем, чем у других культур, содержании антипитательных веществ [6]. На современном этапе тритикале можно считать перспективной коммерческой зерновой культурой, о чем свидетельствуют регулярно проводимые международные конгрессы. В то же время биохимия зерна тритикале изучена крайне мало, особенно это касается процесса прорастания [1, 3, 24].

На ранних этапах прорастания семян зародыш (зародышевая ось) развивается за счет гетеротрофного питания метаболитами, образующимися в процессе мобилизации основных запасных веществ семени, которые гидролизуются под действием определенных ферментов. Особый

интерес представляет изучение активности ключевых ферментов метаболизма глутамина и глутаминовой кислоты в процессе прорастания, так как зародыш на ранних этапах получает  $\alpha$ -аминный азот в виде глутаминовой кислоты и неорганический азот в виде аммония, который используется для синтеза *de novo* биологических молекул.

В составе запасных белков эндосперма злаковых растений, например пшеницы, содержится до 45 % остатков глутаминовой кислоты [4], которые на 85 % амидированы, поэтому при протеолизе высвобождается глутамин. Как и где глутамин превращается в глутаминовую кислоту пока неизвестно. Это возможно под действием глутаминазы (КФ 3.5.1.2), катализирующей гидролиз глутамина до *L*-глутаминовой кислоты и  $\text{NH}_3$ . Следует отметить, что глутаминаза высших растений изучена мало, в то время как о глутаминазе у животных, бактерий и других микроорганизмов сведений достаточно много [12].

Ключевые позиции при первичной ассимиляции и реассимиляции аммония занимают глутаминсинтетаза (ГС, КФ 6.3.1.2), катализирующая синтез глутамина из глутамата и аммиака, и глутаматдегидрогеназа с НАДН в качестве кофермента (ГДГ, КФ 1.4.1.2 + 1.4.1.3), катализирующая синтез глутамата из 2-оксоглутарата и  $\text{NH}_3$ . В процессе первичной ассимиляции связывается аммоний, поступивший из окружающей среды или образовавшийся в результате симбиотической азотфиксации, а также при восстановлении нитрата. При реассимиляции связывается аммоний, образовавшийся либо при гидролизе запасных белков во время прорастания семян и сопровождающем его процессе дезаминирования аминокислот, либо при распаде белков в стареющих вегетативных органах растения и передвижении транспортных форм азота к формирующимся семенам. Особый интерес к ГС вызван также имеющимися сведениями о ее взаимосвязи с эффективностью таких важных физиологических процессов, как прорастание семян и формирование урожая [16].

ГДГ является одним из наиболее широко распространенных ферментов в мире живых существ. Он катализирует обратимую реакцию связывания аммония и 2-оксоглутарата с образованием глутамата. Свойства ГДГ подробно изучены в проростках и вегетативных органах растений, а сведений о свойствах ГДГ в процессе прорастания зерна недостаточно. В связи с этим изучение динамики активности ГДГ в зародыше и эндосперме семян тритикале в период набухания и прорастания даст дополнительную информацию о механизмах активации ГДГ на ранних этапах прорастания зерна.

Цель нашей работы состояла в изучении изменений активности ключевых ферментов метаболизма глутамина, глутаминовой кислоты в процессе прорастания зерна тритикале — глутаминазы, глутаминсинтетазы, глутаматдегидрогеназы.

### Методика

Объектом исследований были семена тритикале (*Triticosecale* Wittm. & A. Camus) (гибрид ржи и пшеницы) сорта Гермес отечественной селекции, созданного в Московском НИИ сельского хозяйства «Немчиновка» Россельхозакадемии, которые хранились при 10—12 °С в течение года после сбора урожая. В экспериментах использовали воздушно-сухие семена, поверхностно стерилизованные слабым раствором перманганата калия в

течение 2 мин при интенсивном перемешивании с последующим ополаскиванием бидистиллированной водой и обсушиванием фильтровальной бумагой. Предварительно определяли оптимальную температуру прорастания и изменение массы сырого вещества семян в процессе набухания и начале роста. Для проведения анализов брали целые зерна, зародыши и эндосперм, которые разделяли вручную. Одинаковые по размеру семена проращивали при оптимальной температуре (21 °С) в термостате в течение 72 ч, пробы для анализа отбирали через 12, 18, 24, 48 и 72 ч [1].

Бесклеточный экстракт получали по схеме, описанной в работах [8, 11]. Для этого с целью определения ферментативной активности образцы опытного материала — целых семян и отделенных от них зародышей и эндосперма — замораживали в жидком азоте, размалывали в кофемолке и экстрагировали белки в течение 1 ч при 4 °С тремя объемами 5 мМ *трис*-НС1-буфера (рН 7,2), содержащего 2 мМ ЭДТА, 2 мМ MgSO<sub>4</sub>, 2 мМ 2-меркаптоэтанола. Полученный экстракт фильтровали через 4 слоя марли, затем центрифугировали в течение 30 мин при 18 000 g. Надосадочную жидкость использовали в качестве бесклеточного ферментного препарата.

Активность ГС определяли по методу Шапиро и Стедмана [22] в трансферазной реакции по количеству образовавшегося глутамилгидроксиамата. В качестве единицы активности (*E*) принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль *L*- $\gamma$ -глутамилгидроксиамовой кислоты ( $\gamma$ -ГГК) за 1 мин; удельную активность выражали как число единиц активности на 1 мг белка.

Активность ГДГ находили спектрофотометрическим методом [8] по изменению оптической плотности при 340 нм и 25 °С в реакции аминирования 2-оксоглутарата с НАДН в качестве кофактора. Выражали ее количеством микромолей на 1 мг белка за 1 мин.

Активность глутаминазы устанавливали по количеству образующихся при ферментативном гидролизе *L*-глутамина продуктов реакции — *L*-глутамата и NH<sub>3</sub> [7]. В качестве единицы активности (*E*) принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль продукта за 1 мин.

NH<sub>3</sub> как продукт реакции определяли микродиффузионным методом с реактивом Несслера, как описано в работе [5]. Содержание аммиака выражали в микрограммах на 1 мл экстракта.

Содержание белка находили по методу Бремхолла [10].

Содержание общего количества и отдельных свободных аминокислот измеряли на автоматическом анализаторе аминокислот Liquimat III (Германия) с разделением в цитратно-литиевом буфере при четырехступенчатом градиенте рН и температуре колонки от 26 до 67 °С. Аминокислоты экстрагировали трижды горячим этанолом (85 °С), упаривали на кипящей водяной бане и растворяли в цитратно-литиевом буфере (рН 2,2) для внесения в колонку; объем вносимой пробы — 25 мкл.

Все опыты проводились в трех повторностях, среднеквадратичные погрешности составляли 5 %.

## Результаты и обсуждение

В нашей предыдущей работе [1] было установлено, что источником соединений азота для метаболических потребностей клеток зародыша в ходе начальных стадий прорастания могут служить его собственные растворимые белки, выполняющие функцию запасных веществ. Деструкция

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ОБМЕНА ГЛУТАМИНА

*Изменение содержания растворимого белка, аммиака и удельной активности глутаминазы в целом зерне, зародышах и эндосперме прорастающих семян тритикале*

Время прорастания, ч	Белок, мг/мл экстракта	Аммиак, мкг/мл экстракта			Активность глутаминазы, $10^{-3}$ E/мг белка		
	Целое зерно	Целое зерно	Зародыш	Эндосперм	Целое зерно	Зародыш	Эндосперм
0	5,7±0,2	12,0±0,6	22,0±0,7	12,4±0,5	30±2	30±3	20±2
6	4,3±0,2	18,4±0,7	12,8±0,5	16,0±0,8	40±1	30±1	10±0,5
12	4,1±0,1	14,8±0,6	10,4±0,4	19,2±0,3	60±3	40±1	20±1
18	4,0±0,2	15,6±0,5	9,6±0,5	21,2±0,4	80±2	50±3	20±3
24	3,2±0,1	21,2±0,8	8,8±0,4	25,2±1,1	110±5	70±5	30±2
48	1,7±0,1	22,4±0,6	8,2±0,4	34,0±1,1	120±7	100±7	50±4
72	1,2±0,1	24,8±0,6	8,0±0,3	27,2±1,3	110±7	140±5	60±3

последних создает фонд низкомолекулярных азотсодержащих соединений — аминокислот и аммиака, являющихся строительным материалом для обеспечения протекания метаболизма, характерного для переходного периода от состояния покоя к прорастанию, интенсивному росту и развитию, что в конечном счете приводит к образованию растения с присущим ему автотрофным питанием.

В таблице приведены данные об изменении содержания общего растворимого белка и аммиака в прорастающем зерне тритикале. Как и на ранних стадиях прорастания семян пшеницы, в семенах тритикале снижается количество растворимого белка в результате протеолиза запасных белков под действием протеиназ и пептидаз, что свидетельствует о его деградации [1]. Образующиеся аминокислоты и амиды могут проходить сквозь щиток из эндосперма в зародышевую часть прорастающего семени и использоваться в синтезе белков, в том числе ферментов *de novo*.

Количество аммиака в исследованные сроки прорастания (см. таблицу) поддерживалось на достаточном уровне для обеспечения интенсивно протекающих процессов синтеза азотсодержащих метаболитов формирующегося растения. С этим, по-видимому, связано повышение содержания аммиака в целом зерне и эндосперме. Кроме того, увеличение его содержания может быть обусловлено дезаминированием глутамина как свободного, так и высвобождающегося в процессе протеолиза, о чем свидетельствуют данные, представленные на рис. 1. Из них видно, что содержание глутамина снижается, а глутаминовой кислоты повышается. Процесс происходит как под действием глутаминазы, так и в результате кислотного гидролиза амидных групп аспарагина и глутамина, содержащихся в запасных белках. Их гидролиз обусловлен тем, что в семенах при их прорастании pH смещается от 7 до 5 вследствие высвобождения малата из алейронового слоя [13]. Известно, что глутамин нестабилен в кислой среде, хотя в опытах *in vitro* при определении глутаминазной активности при pH 4,7 он не гидролизовался, по крайней мере в течение 30 мин.

В зародышах в отличие от эндосперма содержание аммиака уменьшалось (см. таблицу), что связано с высокой активностью ГС. Из образующегося *de novo* глутамина синтезируются важнейшие метаболиты, необходимые для формирования вегетативных органов растения.

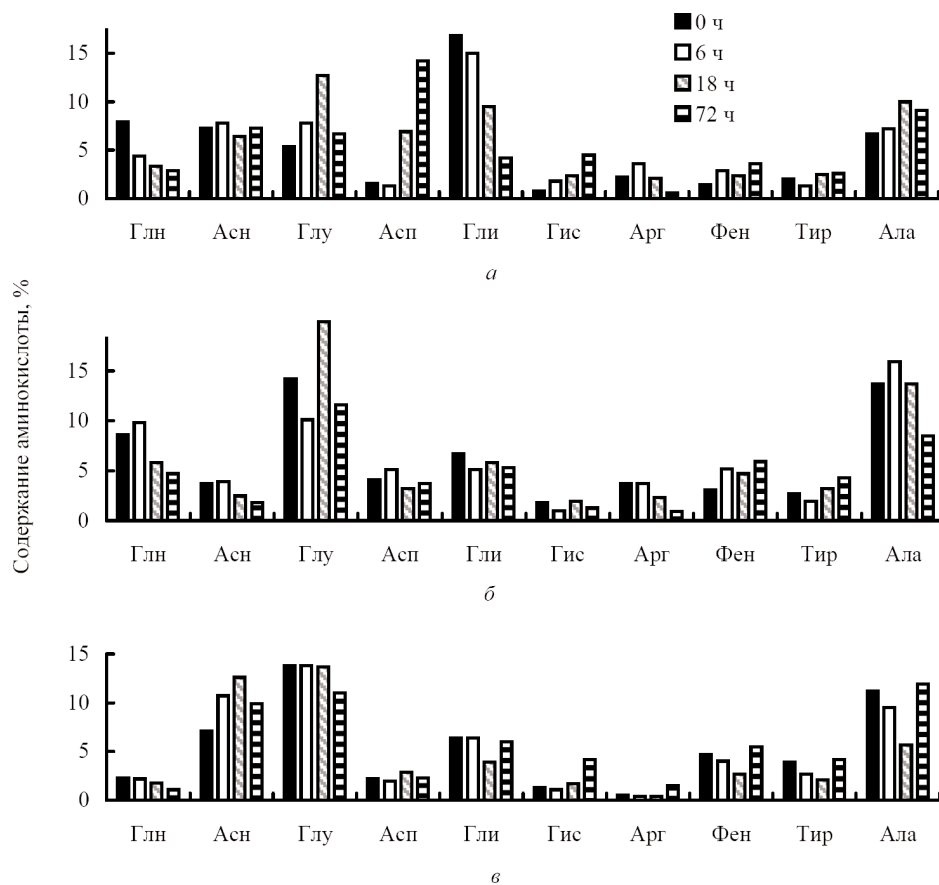


Рис. 1. Содержание отдельных свободных аминокислот в зародышах (а), эндосперме (б) и целых прорастающих семенах (в), % общего количества из 1 г опытного материала

**Активность глутаминазы.** Из данных таблицы видно, что активность глутаминазы семян по мере их прорастания значительно повышалась. Увеличение количества ферментного экстракта в условиях опыта не снижало ее, что указывает на отсутствие в нем ингибиторов. Оптимальные значения pH (7,6—7,8) близки к таковым, показанным ранее для люпина [7], но отличаются от оптимальных pH глутаминаз *E. coli* [19].

В листьях 10-суточных проростков тритикале, как и проростков пшеницы [8], активность глутаминазы и содержание аммиака ниже, чем в прорастающем целом зерне. Очевидно, такое снижение характерно для автотрофного метаболизма развивающегося растения. Возможно, что активность глутаминазы регулируется по принципу индукция (в процессе гетеротрофного питания прорастающего зародыша) — репрессия (при полном переходе на автотрофное обеспечение роста) ее синтеза.

**Активность глутаминсинтетазы.** ГС является главным ферментом первичной ассимиляции аммония в процессе усвоения растениями неорганического азота. Ранее было показано, что в семенах пшеницы — одного из родителей тритикале — содержится только один изофермент ГС, локализованный исключительно в зародыше, в то время как в листьях найдены два изофермента, как у большинства растений [15].

В сухих семенах тритикале ГС активная как в зародыше, так и в эндосперме, причем в зародышах ее почти в 3 раза больше, чем в эндо-

сперме (до 18 ч набухания) (рис. 2, а). Из рисунка видно, что в процессе прорастания удельная активность ГС зародышей резко повышалась к 24 ч набухания, т.е. ко времени начала роста зародышевого корня, затем почти не изменялась. В эндосперме она возрастала плавно вплоть до 72 ч набухания, но к этому времени (к 72 ч) была в 1,5 раза ниже активности ГС в зародышах. Подобное повышение активности ГС наблюдалось в набухающих семенах пшеницы [8] и кукурузы [16]. Все это свидетельствует о том, что для ранних стадий прорастания семян характерен период интенсивной метаболической активности вследствие реассимиляции аммония, выделяющегося при гидролизе запасных белков.

Из образующегося под действием ГС амидного и аминного азота глутамин синтезируются многие метаболически важные азотсодержащие соединения растительной клетки [2, 18], а образующаяся из него глутаминовая кислота, как отмечалось выше, является единственным источником альфа-аминного азота для синтеза аминокислот. Распад поступающего в зародыш глутамин и его ресинтез могут указывать на функционирование так называемого глутаминового цикла, который впервые был обнаружен у *Neurospora crassa* [18].

Недавние результаты исследований, полученные на трансгенных растениях, дают основание предполагать, что изменения экспрессии ГС способны ускорять развитие растений. Винкент и соавт. [23] обнаружили, что трансгенные растения *Lotus corniculatus* L., содержащие встроенный ген ГС1 сои, развиваются быстрее и цветут раньше, чем обычные. Кроме участия ГС в ускоренном развитии обнаружена ее корреляция с эффективностью прорастания семян. Например, важная роль ГС в этом процессе у кукурузы подтверждена совпадением QTLs (локусов количественных признаков) для эффективности прорастания с генами, кодирующими ГС1 [16].

В результате развития генной инженерии, получения мутантных и трансгенных растений установлена взаимосвязь между ГС и эффективностью та-

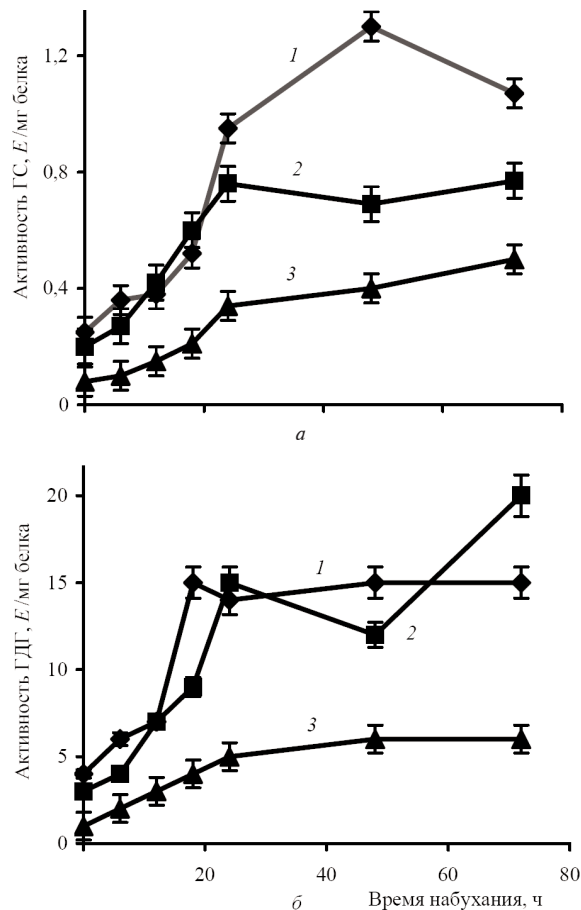


Рис. 2. Изменение активности глутаминсинтетазы (а) и глутаматдегидрогеназы (б) в целом зерне (1), зародыше (2) и эндосперме (3) при прорастании

ких важных физиологических процессов, как прорастание семян, формирование урожая.

**Активность глутаматдегидрогеназы.** ГДГ является одним из самых распространенных ферментов, а появившиеся в последние годы данные свидетельствуют о его важной роли в растительном метаболизме. С момента признания ГС/ГОГАТ-цикла как основного пути ассимиляции азота у высших растений в литературе сложились две точки зрения о возможной роли ГДГ в растительном метаболизме. Согласно первой, ГДГ может эффективно осуществлять первичную ассимиляцию аммония в дополнение к ГС/ГОГАТ-циклу, что особенно важно при повышенных концентрациях аммония в среде или при действии на растение стрессовых факторов. Согласно второй, преобладающей точке зрения, ГДГ функционирует преимущественно в направлении дезаминирования глутамата, в том числе и в стрессовых условиях. За последние полтора десятилетия накопилось значительное количество экспериментальных данных в пользу как первой [9, 20], так и второй точек зрения [17, 21]. Поэтому, несмотря на убедительные доказательства катаболической роли ГДГ, нельзя утверждать, что ее роль в растительном метаболизме ограничивается только этим. Вероятнее всего функция ГДГ заключается в поддержании C/N-баланса растений [17, 21]. При этом направленность катализируемой ГДГ реакции изменяется в зависимости от стадии развития растения, исследуемой части зерна, периода суточного цикла и внешних условий [8, 14].

Из полученных нами данных, представленных на рис. 2, б, видно, что удельная активность ГДГ в зародышах в 15–20 раз выше активности ГС, которая является главным ферментом первичной ассимиляции аммония в процессе усвоения растениями неорганического азота. Однако ход зависимости активности ГДГ от времени набухания подобен ходу кривой для ГС до 24 ч набухания, т.е. до периода начала увеличения зародышевого корня. В эндосперме удельная активность ГДГ была в 2–3 раза ниже, чем в зародыше, и мало изменялась после 24 ч набухания.

Итак, мы экспериментально доказали, что динамика активности ГДГ при набухании и прорастании семян тритикале зависит от локализации фермента в семени. Удельная активность ГДГ зародыша всегда выше, чем эндосперма, запасающей части зерна, где метаболические процессы протекают с меньшей скоростью.

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что при набухании и на ранних этапах прорастания семени тритикале активность ферментов обмена глутамината сосредоточена главным образом в его зародыше. Удельная активность ферментов зависит от времени набухания зерна и от исследуемой его части.

Выражаем благодарность кандидату биологических наук, старшему научному сотруднику Алексею Владимировичу Софьину за полезные советы при написании данной статьи.

1. Арапова Л.И., Чумикина Л.В., Топунов А.Ф. Действие теплового шока на прорастание и мобилизацию запасных белков зерна тритикале, ржи и пшеницы // Вестн. МичГАУ. — 2011. — № 2, ч. 1. — С. 81–87.
2. Евстигнеева З.Г. Глутаминаза: роль в азотном метаболизме растений, регуляция и структура // 41-е Баховское чтение. — М.: Наука, 1988. — С. 64.
3. Жмакина О.А., Кретович В.Л., Сахарова И.А. Некоторые биохимические особенности зерна тритикале // Прикл. биохимия и микробиология. — 1976. — XII, вып. 6. — С. 909–913.
4. Кретович В.Л. Биохимия зерна и хлеба. — М.: Наука, 1991. — 131 с.

5. Любимов В.И., Львов Н.П., Курштейн Б.Э. Модификация микродиффузионного метода определения аммиака // Прикл. биохимия и микробиология. — 1968. — 4, № 1. — С. 120—121.
6. Сечняк Л.К., Сулима Ю.Г. Тритикале. — М.: Колос, 1984. — 317 с.
7. Сидельникова Л.И. Биосинтез аспарагиновой и глутаминовой кислот у высших растений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1987. — 24 с.
8. Соловьева Н.А., Сидельникова Л.И., Шапошников Г.Л. и др. Активность ферментов, ответственных за метаболизм азота и углерода в прорастающих семенах пшеницы // Прикл. биохимия и микробиология. — 1998. — 34, № 2. — С. 189—192.
9. Aubert S., Bligny R., Douce R. et al. Contribution of glutamate dehydrogenase to mitochondrial glutamate metabolism studied by C and P nuclear magnetic resonance // J. Exp. Bot. — 2000. — 52. — P. 354—367.
10. Bramhall S., Noack N., Wu M., Loewenberg J.R. A simple colorimetric method for determination of protein // Anal. Biochem. — 1969. — 31, N 1—3. — P. 146—148.
11. Cabello P., Haba P., Maldonado J.M. Isoforms of glutamine synthetase in cotyledons, leaves and roots of sunflower plants // J. Plant Physiol. — 1991. — 137, N 3. — P. 378—380.
12. De la Rosa V., Campos-Sandoval J.A., Martin-Rufian M. et al. A novel glutaminase isoform in mammalian tissues // Neurochem. Internat. — 2009. — 55, N 1—3. — P. 76—84.
13. Drozdowicz Y.M., Jones R.L. Hormonal regulation of organic and phosphoric acid release by barley aleurone layers and scutella // Plant Physiol. — 1995. — 108, N 3. — P. 769—776.
14. Foyer Ch.H., Parry M., Noctor G. Markers and signals associated with nitrogen assimilation in higher plants // J. Exp. Bot. — 2003. — 54, N 382. — P. 585—593.
15. Kichey T., Jacques Le Gouis, Sangwan B. et al. Changes in the cellular and subcellular localization of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase during flag leaf senescence in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Plant Cell Physiol. — 2005. — 46, N 6. — P. 964—974.
16. Limami A.M., Rouillon C., Glevarec G. et al. Genetic and physiological analysis of germination efficiency in maize in relation to nitrogen metabolism reveals the importance of cytosolic glutamine synthetase // Plant Physiol. — 2002. — 130. — P. 1860—1870.
17. Mamta M.J., Rekha G. Effect of cadmium on HADH-glutamate synthase activities in excised bean leaf segments: Role of glutathione // Indian J. Exp. Biol. — 1998. — 36, N 6. — P. 625—627.
18. Mora J. Glutamine metabolism and cycling in *Neurospora crassa* // Microbiol. Rev. — 1990. — 54, N 3. — P. 293—304.
19. Prusiner S. The enzymes of glutamine metabolism // Ed. S. Prusiner, E.R. Stadtman. — New York: Acad. Press, 1973. — P. 293—318.
20. Robinson Sh.A., Stewart G.R., Phillips R. Regulation of glutamate dehydrogenase activity in relation of carbon limitation and protein catabolism in carrot cell suspension cultures // Plant Physiol. — 1992. — 98. — P. 1190—1195.
21. Sawhney V., Sheoran I.S., Singh R. Nitrogen fixation, photosynthesis and enzymes of ammonia assimilation and ureide biogenesis in nodules of mungbean (*Vigna radiata*) grown in presence of cadmium // Indian J. Exp. Biol. — 1990. — 28, N 9. — P. 883—886.
22. Shapiro B.S., Stadtman E.R. The regulation of glutamine synthesis in microorganisms // Annu. Rev. Microbiol. — 1970. — 24. — P. 501—522.
23. Vincent R., Frasier V., Chaillou S. et al. Overexpression of a soybean gene encoding cytosolic glutamine synthetase in shoots of transgenic *Lotus corniculatus* L. plants triggers changes in ammonium assimilation and plant development // Planta. — 1997. — 201, N 4. — P. 424—433.
24. Weidner S., Lukaszewicz D., Amarowicz R. Significant role for polysomes associated with the cytoskeleton in the control of protein synthesis during germination of triticale caryopses in the presence of abscisic acid // Acta Physiol. Plant. — 2000. — 22, N 2. — P. 185—193.

Получено 14.01.2013

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ОБМІНУ ГЛУТАМІНУ В ЗЕРНІ ТРИТИКАЛЕ,  
ЩО ПРОРОСТАЄ

Л.В. Чумикіна<sup>1</sup>, Л.І. Арабова<sup>1</sup>, В.В. Колпакова<sup>2</sup>, О.Ф. Топунов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут біохімії ім. О.М. Баха Російської академії наук, Москва

<sup>2</sup>Федеральний державний бюджетний освітній заклад вищої професійної освіти «Московський державний університет харчових технологій»

Установлено, що в процесі проростання зерна тритикале значно підвищувалась активність ключових ферментів азотного метаболізму — глутаматдегідрогенази (ГДГ з НАДН), глут-



тамінсинтетази (ГС), глутамінази. Найбільшою мірою цей показник підвищувався в зародковій частині зерна. Активність ГС у зародках сухого насіння була майже у 3 рази вищою, ніж в ендоспермі. Під час набухання насіння питома активність ГС зародків різко зростала до 24 год і далі майже не змінювалась, що характерно для ферменту, який відіграє провідну роль у період перебудови метаболізму. В ендоспермі активність ГС плавно підвищувалась до 72 год набухання включно, але до цього часу залишалась в 1,5 раза нижчою за активність ГС у зародках. Питома активність ГДГ зародка завжди у 2–3 рази перевищувала активність ендосперму — запасальної частини зерна, де метаболічні процеси відбуваються з меншою швидкістю. Отже, під час набухання й на ранніх стадіях проростання зерна тритикале активність ферментів обміну глутаміну зосереджена в основному в зародку зерна. Виявлено залежність активності ферментів у тканинах від часу набухання зерна та досліджуваної його частини.

#### ACTIVITY OF THE GLUTAMINE METABOLIC ENZYMES IN GERMINATING TRITICALE GRAIN

*L.V. Chumikina<sup>1</sup>, L.I. Arabova<sup>1</sup>, V.V. Kolpakova<sup>2</sup>, A.F. Topunov<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>A.N. Bach Institute of Biochemistry Russian Academy of Sciences  
33 Leninskii pr., Moscow, 119071, Russian Federation

<sup>2</sup>Moscow State University of Food Production  
11 Volokolamskoye road, Moscow, 125080, Russian Federation

During triticale grain germination high increase of activities of key enzymes of nitrogen metabolism — glutamate dehydrogenase (GDH with NADH), glutamine synthase (GS), glutaminase — took place. The largest activation was observed in the embryo of grain if compare with the endosperm. In the embryo of dry seeds GS activity was almost 3 times higher than in the endosperm. During grain imbibition GS specific activity of the embryo increased sharply at 24 h, and then remained almost stable, that is typical for an enzyme which plays a primary role in the restructuring of metabolism. In the endosperm GS activity increased gradually up to 72 h of imbibition, but its value at this time (72 h) was 1.5 times lower than that in the embryos. The GDH specific activity of the embryo is always higher (2–3 times) than GDH activity of the endosperm, a store part of grain, where metabolic processes occur at slower rate. Thus, we can conclude that during imbibition and early stages of germination of triticale grain the activity of enzymes of glutamine exchange concentrated mainly in the embryo of grain. The dependence of the enzymatic activity in the cells on the time of grain imbibition and its explored part was revealed.

*Key words:* *Triticosecale* Wittm. & A. Camus, embryo, endosperm, germination, glutaminase, glutamate dehydrogenase, glutamine synthase.