

<https://doi.org/10.3176/biol.1976.3.08>

УДК 581.14:633.11

Вильве ЯАСКА

ВЛИЯНИЕ СРЕДЫ ПРОРАСТАНИЯ НА СОСТАВ ИЗОФОРМ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ, РЖИ И РИСА

Растения, как и другие живые организмы, способны перестраивать процессы клеточного обмена в зависимости от условий внешней среды обитания и стадии онтогенеза в широких пределах. Эта перестройка становится возможной благодаря наличию в организме приобретенных в ходе эволюции регуляторных механизмов обмена веществ, важная роль среди которых принадлежит механизму регуляции образования и активности ферментов. Изучение регуляторных механизмов клетки и способов управления ими способствует познанию узловых теоретических вопросов биологии о сущности процессов экологической адаптации и онтогенетической регуляции.

Одним из ферментов, активность которого определяют тип ткани и условия роста растения, является алкогольдегидрогеназа (АДГ, КФ. 1.1.1.1). Показано (App, Meiss, 1958; Hageman, Flesher, 1960; и др.), что ограничение доступа кислорода к тканям проростков у ряда растений вызывает повышение в них концентрации спирта и увеличение активности АДГ. Выяснилось, что повышение активности АДГ в корнях затопленных растений зависит от их физиологической устойчивости к затоплению (Crawford, 1967; Crawford, McMannon, 1968). У видов, менее приспособленных к росту в обводненных условиях, наблюдалось более резкое увеличение ферментативной активности. Таким образом, можно говорить о специфической для растения индукции АДГ-активности в ответ на дефицит кислорода.

Кроме того, АДГ-активность наблюдается также в нормальных аэробных условиях в меристематических тканях растений, где наряду с кислородным дыханием происходит спиртовое брожение (Ruhland, Ramshorn, 1938). Так, активная АДГ выявлена в прорастающих семенах гороха, бобов, риса, пшеницы и ряда других растений (Davidson, 1949; Cossins, Turner, 1962; и др.). Как известно, многие ферменты существуют в организмах во множественных молекулярных формах, что позволяет им лучше выполнять разнообразные биологические функции в дифференцированных тканях, а также адаптироваться к различным воздействиям окружающей среды. Для выяснения того, какие молекулярные формы АДГ ответственны за активность фермента в аэробных условиях и какие из них функционируют при дефиците кислорода, нами предпринято электрофоретическое фракционирование в полиакриламидном геле АДГ проростков и тканей отдельных органов диплоидной пшеницы (*Triticum monococcum* L.), ржи (*Secale cereale* L.) и риса (*Oryza sativa* L.), прорастающих в аэробных и анаэробных условиях.

Материал и методика

Семена *T. monosocum* (образец К-35915, ВИР) и *S. cereale* (сорт 'Вамбо') проращивали в аэробных условиях на листах фильтровальной бумаги, смоченных дистиллированной водой или испытуемым раствором, в темноте при 22—24 °С около 46 ч. Для испытания частичным анаэробиезом проростки, выращенные около суток в аэробных условиях, как и предыдущие, заливали 4—5 см слоем соответствующего раствора и выдерживали в темноте при 22—24° около 24 ч. Этилированные шестидневные проростки выращивали в химических стаканах на листах фильтровальной бумаги, смоченных 20 мМ Ca(NO₃)₂·4H₂O, в течение пяти дней на воздухе, а затем под 6—7 см слоем воды, 20 мМ хлоралгидрата или 50 мкг/мл актиномицина Д и выдерживали в темноте при 22—24° в течение 24 ч.

Изучали также АДГ в тканях 3—13-дневных проростков двух образцов риса из коллекции ВИР (затопляемого — сорт 'Краснодарский' (К-3870) — и суходольного — сорт 'Урожайный' (К-4889)), выращенных аэробно в течение 3—13 дней на смоченной водой фильтровальной бумаге или сначала 3—5 дней на воздухе, а затем 3—8 дней под водой.

Ферментные экстракты готовились гомогенизацией зародышей и тканей проростков в 0,2 мл холодного буфера, состоящего из 0,05 М трис-оксиметиламинометана (трис), 0,01 М ЭДТА и 0,005 М цистеина. Гомогенаты центрифугировались при 16 000 об/мин в течение 2—3 мин. К полученной надосадочной жидкости для большей вязкости добавляли 40—60 мг 1:10 смеси сефадекса G-200 и сахарозы. Пробы сразу же применялись для электрофореза.

Пластинки гелей для фракционирования готовили фотополимеризацией свежеприготовленного раствора, содержащего 10% акриламида, 0,15% N,N'-метиленбисакриламида, 0,12 М трис, 0,1 М HCl, 0,05% триэтанолamina и 0,5 мг% рибофлавин-5-фосфата. Электрофорез проводился согласно методике, опубликованной нами ранее (Jaaska, Jaaska, 1969). Активность АДГ выявлялась при инкубации гелей в свежеприготовленной среде, состоящей из 25 мл 0,1 М трис-HCl-Mg буфера (0,4 мМ MgSO₄) с pH 8,3, 2 мл 98%-ного этилового спирта, 2 мл 7,5 мМ НАД, 2 мл 0,2%-ного гидрохлорида нитротетразолиевого синего, изготовленного в 5%-ном диметилформамиде, и 0,4 мл 0,2%-ного феназинметосульфата. Инкубирование гелей проводилось в темноте при 35—40°.

Результаты и их обсуждение

Как видно по электрофореграммам 1 и 10 (рисунок), АДГ проростков ржи и пшеницы, пророщенных в течение 46 ч в аэробных условиях на дистиллированной воде, представлена одной-двумя изоформами фермента — очень интенсивной фракцией и менее активной, но более подвижной и не всегда выявляющейся фракцией. У пшеницы фракции АДГ электрофоретически более подвижны, чем у ржи. Те же фракции АДГ активности наблюдались и на электрофореграммах непроросших еще зародышей, когда семена ржи и пшеницы выдерживались в течение 24 ч на сырой фильтровальной бумаге при 5°. В тканях суходольного и затопляемого сортов риса активность АДГ проявлялась в основном в виде двух (иногда трех) фракций, причем наибольшей она была в зародыше молодых проростков, а весьма низкой — в колеоптиле и особенно в корне. О выявлении в молодых проростках или семенах характерных для вида изоформ АДГ сообщают и некоторые другие авторы (Hart, 1969; Leblová и др., 1971; Kohl, Baierova, 1973).

К третьему-четвертому дню прорастания активность АДГ в проростках ржи и пшеницы, выращиваемых в аэробных условиях, постепенно уменьшается до весьма низкого уровня. Это можно объяснить тем, что к этому времени начинается рост клеток растяжением, улучшается доступ кислорода в семена, а спиртовое брожение (характерное для мери-

стематических тканей) частично заменяется кислородным дыханием. Падение активности АДГ с увеличением возраста тканей отмечалось и у других растений (Scandalios, Felder, 1971). Некоторые исследователи (Efron, Schwartz, 1968) показали, что уменьшение активности АДГ при росте регулируется совместным действием двух факторов, из которых один образуется в клетках зародыша, а другой — в дифференцированных тканях, что и вызывает разрушение АДГ при появлении последних.

В отличие от пшеницы и ржи у риса в листе АДГ-активность обнаруживалась и после тринадцати дней прорастивания. Это, по-видимому, является эволюционно приобретенной особенностью риса — растения, приспособленного к прорастанию и длительному росту под водой. Имеются данные (Schwartz, 1969), показывающие, что для нормального роста проростка на воздухе необходимости в активности АДГ нет, тогда как в анаэробных условиях (в воде) могут развиваться лишь те растения, которые способны образовывать АДГ.

Перевод проростков ржи и пшеницы после односуточного выращивания на воздухе в частично анаэробные условия (гипоксия) сопровождался появлением на их электрофореграммах новых добавочных полос АДГ и увеличением активности малоактивной второй зоны (электрофореграммы 2 и 11 соответственно для ржи и пшеницы). Электрофоретическая подвижность новых фракций АДГ в проростках ржи и пшеницы, появляющихся в анаэробных условиях, превышает такую аэробных фракций. Появление новых фракций АДГ связано, по-видимому, не только с более активным биосинтезом этанола (см. в последующем действии 2,4-ДНФ), но и с ответной реакцией организма на необычайные условия среды. О появлении новых изоформ АДГ при анаэробнозе сообщают и другие авторы (Kohl, Vaierova, 1973). Различный химический состав анаэробной среды, т. е. выдерживание проростков ржи и пшеницы в течение суток под 20 мМ растворами $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, NH_4Cl или Na_2HPO_4 (соответственно электрофореграммы 3—5 для ржи) в сравнении с водой не вызывало изменений в спектре АДГ, хотя в активности отдельных фракций и наблюдались некоторые колебания. Наличие в среде 20 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ при гипоксии значительно ингибировало появление в проростках ржи (электрофореграмма б) и пшеницы добавочных фракций АДГ. Механизм наблюдаемого явления остается нераскрытым. Образование характерных для анаэробноза фракций АДГ в проростках ржи и пшеницы оказалось обратимым процессом: возвращение проростков после непродолжительной гипоксии на воздух сопровождалось исчезновением дополнительных фракций и уменьшением с возрастом проростков активности основных.

Выдерживание риса (затопляемого и суходольного) от трех до восьми дней под водой (после 5 дней роста на воздухе) не вызывало в тканях coleoptilia и листа ни появления новых изоформ, ни изменения электрофоретической подвижности двух «аэробных» изоформ АДГ. Однако затопление приводило к значительному повышению активности фермента в листе, coleoptile и корне (соответственно электрофореграммы 21—23, сорт 'Урожайный'). Можно полагать, что ткани листа риса более насыщены кислородом (см. Гринева и др., 1970) и поэтому менее чувствительны к наступающему анаэробнозу. Качественных различий в реакции суходольного и затопляемого сортов риса на дефицит кислорода не установлено.

Выращивание проростков ржи и пшеницы в 10^{-4} М 2,4-дихлоруксусной кислоте (2,4-Д) при дефиците кислорода или на этом же растворе на воздухе не вызывало существенных изменений в спектре АДГ по

сравнению с выращиванием на воде (электрофореграммы 7 и 8 для ржи и 12 и 13 для пшеницы). Присутствие 2,4-Д — соединения, способствующего меристематическому делению клеток — однако, тормозило уменьшение ферментативной активности у проростков ржи и пшеницы после двухдневного проращивания в аэробных условиях.

Разобшитель окислительного фосфорилирования — 2,4-динитрофенол (2,4-ДНФ) — на изоформы АДГ двухдневных проростков ржи и пшеницы эффекта не имел (электрофореграммы 9 и 14). Из литературы известно (Nordheim, Müller, 1963), что обработка семян злаков 2,4-ДНФ при аэрации вызывает в них повышение содержания этанола до уровня, наблюдаемого при анаэробнозе. Как видно по электрофореграммам, повышенный синтез этанола в присутствии 2 мМ 2,4-ДНФ на воздухе в наших опытах контролируется все теми же двумя «аэробными» изоформами АДГ. При дефиците кислорода в окружающей среде 2 мМ 2,4-ДНФ оказался для АДГ двухдневных проростков ржи и пшеницы сильным ингибитором — на электрофореграммах не обнаруживалась ни одна зона АДГ. По-видимому, при недостатке кислорода в присутствии 2,4-ДНФ настолько нарушается энергетический баланс клеток, что процессы распада фермента начинают преобладать над реакциями синтеза.

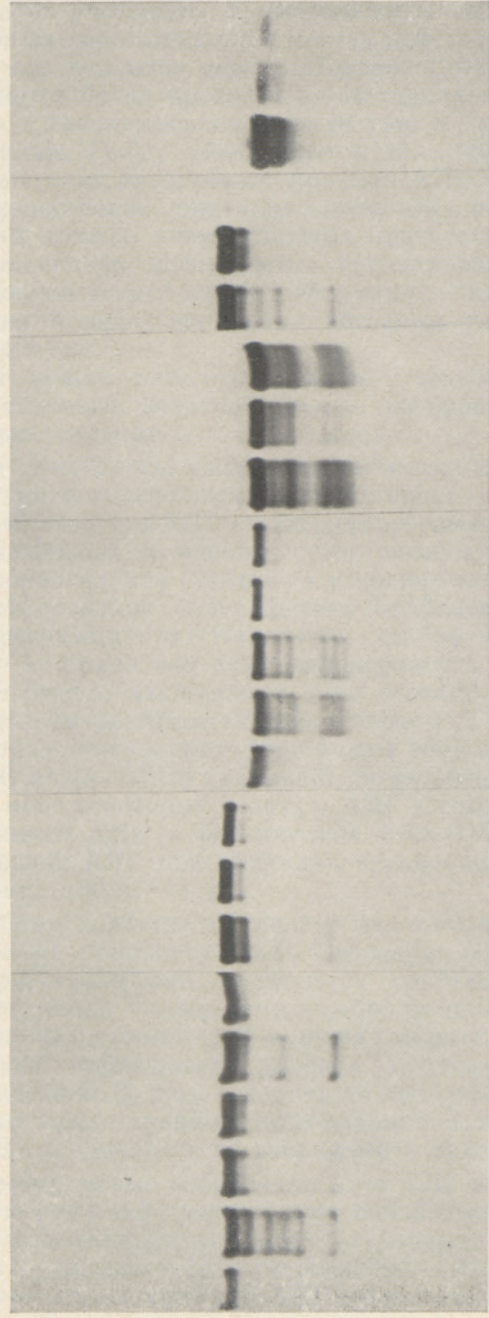
В пяти-шестидневных проростках ржи и пшеницы активность АДГ на воздухе была весьма низкой. Выдерживание таких проростков около суток под водой индуцировало в их листьях набор изоформ АДГ. В погруженных корнях ржи активность АДГ выявить не удалось. Имеются сообщения об отсутствии индуцированной АДГ-активности в корнях кукурузы, выдерживаемых в анаэробных условиях (Freeling, 1973). Среди причин отсутствия АДГ-активности в корнях упоминается возможность быстрого распада фермента.

В последующем более подробно рассмотрен спектр АДГ шестидневно-го листа ржи после однодневного выдерживания проростка под водой. По составу изоформ АДГ, индуцированная в листе ржи, близка АДГ двухдневного «анаэробного» проростка (ср. электрофореграммы 18 и 2). В отдельных зонах АДГ между двумя электрофореграммами наблюдаются, однако, и некоторые различия, обусловленные, по-видимому, тканевой специфичностью фермента и разными этапами развития.

При изучении действия ингибиторов транскрипции ДНК — актиномицина Д — и трансляции РНК — хлоралгидрата — (согласно McMahon, Blaschko, 1971) обращает на себя внимание различие в их действии на двух- и шестидневные проростки ржи и пшеницы. Как видно по электрофореграммам 16—17 (для проростков пшеницы, проращенных в течение суток на воде в аэробных, а затем приблизительно столько же в частично анаэробных условиях под слоем испытуемых растворов), присутствие в среде 50 мкг/мл актиномицина Д или 20 мМ хлоралгидрата не сказывалось на составе спектра АДГ двухдневных проростков пшеницы и ржи по сравнению со средой без ингибитора (электрофореграмма 15), хотя некоторые изменения в интенсивности (активности) отдельных изоформ и наблюдались. Поэтому можно считать, что индуцирование гипоксией дополнительных изоформ АДГ в тканях зародыша не обусловлено процессами транскрипции ДНК и их биосинтезом *de novo*.

Отсутствие влияния испытанных ингибиторов на образование у двухдневных проростков новых добавочных зон АДГ при дефиците кислорода поднимает вопрос об их молекулярной природе. Появление новых фракций может быть связано с частичной перестройкой структуры молекулярных форм АДГ, функционирующих уже в аэробных условиях.

1 5 10 15 20 23



Электрофореграммы алкогольдегидрогеназы проростков ржи (1—9), пшеницы (10—17), риса ('Урожайный') (21—23) и листа 6-дневного проростка ржи (18—20); 1 и 10 — азобно 46 ч на воде; 2, 11 и 15 — 22 ч азобно + 24 ч под водой; 3 — 22 ч азобно + 24 ч под 20 мМ Са(NO₃)₂; 4 — 22 ч азобно + 24 ч под 20 мМ NH₄Cl; 5 — 22 ч азобно + 24 ч под 20 мМ Na₂HPO₄; 6 — 22 ч азобно + 24 ч под 20 мМ (NH₄)₂HPO₄; 7 и 12 — 22 ч азобно + 24 ч под 10⁻⁴ М 2,4-Д; 8 и 13 — азобно на 10⁻⁴ М 2,4-Д; 9 и 14 — азобно на 2 мМ 2,4-ДНФ; 16 — азобно + 24 ч под 20 мМ хлоралгидратом; 17 — азобно + 24 ч под актиномицином Д (50 мкг/мл); 18 — 5 дней азобно + 1 день под водой; 19 — 5 дней азобно + 1 день под 20 мМ хлоралгидратом; 20 — 5 дней азобно + 1 день под актиномицином Д (50 мкг/мл); 21—23 — лист, колеоптиль и корень риса, прорастиваемого 5 дней азобно + 3 дня под водой.

В этом случае новые фракции АДГ в двухдневных проростках представляют собой структурные модификации аэробных молекулярных форм. Следует учитывать и возможность неполного проникновения ингибиторов за короткий срок к местам действия. Правдоподобной представляется нам еще одна версия. Показано, что в первые 12—24 ч прорастания синтез белка проходит на матрицах «долгоживущей» *u*-РНК, имеющейся в замаскированном виде уже в зародыше сухого зрелого семени (Marcus, Feeley, 1964; Chen и др., 1968). Если допустить, что синтез добавочных анаэробных фракций АДГ у двухдневных проростков задетерминирован уже «долгоживущей» *u*-РНК зародыша, то их появление не должно ингибироваться присутствием актиномина Д в среде прорастания. Возможность существования в зародыше сухого семени подобной генетической информации, необходимой для выживания растения в неблагоприятных погодных условиях, представляется весьма вероятной.

Наконец, можно допустить наличие в зародыше наряду с активной АДГ ее неактивной, запасной формы, которая переходит в активную в анаэробных условиях.

Как уже отмечалось, выдерживание пятидневных проростков около суток в частично анаэробных условиях индуцировало в их листьях целый комплекс изоформ АДГ (электрофореграмма 18 для ржи). В листьях ржи, подверженных в течение суток воздействию ингибитора трансляции — хлоралгидрата (20 мМ), в условиях гипоксии несколько подавлялось индуцирование анаэробнозом наиболее подвижных зон АДГ (электрофореграмма 19). Напомним, что на двухдневные проростки пшеницы он не влиял или оказывал небольшое подавляющее действие на наиболее быстро движущиеся зоны (электрофореграмма 16). Сильным ингибитором практически всех изоформ АДГ в листьях погруженных проростков ржи (электрофореграмма 20) оказался, однако, актиномин Д (50 мкг/мл). Это указывает, по-видимому, на то, что индукция по крайней мере некоторых изоформ АДГ в погруженном листе связана с транскрипцией ДНК и биосинтезом фермента *de novo*. К выводу о новообразовании АДГ при индукции анаэробнозом пришел и М. Фрилинг (Freeling, 1973).

Таким образом, частичный анаэробноз вызывал образование в двух- и шестидневных проростках новых изоформ АДГ-активности. У двухдневных проростков они образуются вдобавок к уже имеющимся основным аэробным изоформам; их образование не зависит от присутствия в среде актиномина Д и хлоралгидрата. В тканях покоящегося зародыша уже наблюдается высокая активность основных изоформ АДГ. Актиномицин Д, хотя и блокирует транскрипцию локуса АДГ, по-видимому, не предотвращает модификацию высокоактивных основных изоформ АДГ в зародыше во вторичные в условиях анаэробноза.

По-видимому, новые добавочные зоны АДГ в тканях чувствительных к затоплению растений представляют собой продукты частичной дегградации или модификации основных «аэробных» фракций фермента. В тканях риса — представителя гигрофитов — эти процессы не проходят и образования новых фракций АДГ по сравнению с «аэробными» при гипоксии не наблюдается.

Ингибирование актиномицином Д индуцируемого анаэробнозом образования всех изоформ АДГ в тканях листа ржи указывает на то, что основные изоформы ее генетически задетерминированы и их индукция требует транскрипции соответствующего локуса ДНК. Если заблокирован биосинтез основных изоформ АДГ, то не наблюдается и образования их производных, характерных для анаэробных тканей.

Выводы

АДГ-активность непроросших и прорастающих зародышей ржи, диплоидной пшеницы и риса выявляется при электрофорезе в полиакриламидном геле в виде двух-трех изоформ фермента. В ходе прорастания ржи и пшеницы АДГ-активность быстро снижается до весьма низкого уровня в четырех-пятидневных проростках, тогда как в листе риса она сохраняется и после тринадцати дней выращивания.

Перевод семян ржи и пшеницы (после односуточного проращивания на воздухе) в частично анаэробные условия (гипоксия) вызывает в проросших зародышах образование ряда новых добавочных фракций АДГ повышенной электрофоретической подвижности, которые исчезают при возвращении на воздух. Выдерживание четырех-пятидневных проростков ржи и пшеницы около суток под водой индуцирует в листе серию изоформ АДГ. Выращивание под водой (от трех до восьми дней) проростков риса (суходольного и затопляемого) не приводило к образованию в листьях добавочных фракций АДГ, однако значительно повышало активность имеющихся зон.

В двухдневных проростках пшеницы и ржи при дефиците кислорода 2 мМ 2,4-ДНФ ингибировал появление всех, а 20 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ — добавочных изоформ АДГ. Актиномицин Д (50 мкг/мл) при гипоксии не действует на появление добавочных изоформ АДГ в двухдневных зародышах ржи и пшеницы, однако препятствует образованию практически всех изоформ АДГ в листе погруженного шестидневного проростка ржи.

Предполагается, что добавочные изоформы АДГ в тканях чувствительных к затоплению растений представляют собой продукты частичной деградации или модификации основных «аэробных» фракций фермента.

ЛИТЕРАТУРА

- Гринева Г. М., Андреева И. Н., Ступшина Е. А., 1970. Влияние затопления на рост, дыхание и концентрацию кислорода в тканях зародышевых и стеблевых корней кукурузы. Физиол. раст. 17 (4) : 655—662.
- App A. A., Meiss A. N., 1958. Effect of aeration on rice alcohol dehydrogenase. Arch. Biochem. Biophys. 77 (1) : 181—190.
- Chen D., Sarid S., Katchalski E., 1968. Studies on the nature of messenger RNA in germinating wheat embryos. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 60 (3) : 902—909.
- Cossins E. A., Turner E. R., 1962. Losses of alcohol and alcohol dehydrogenase activity in germinating seeds. Ann. Botany, N. S. 26 (104) : 591—597.
- Crawford R. M. M., 1967. Alcohol dehydrogenase activity in relation to flooding tolerance in roots. J. Exptl Bot. 18 (56) : 458—464.
- Crawford R. M. M., McMannon M., 1968. Inductive responses of alcohol and malic dehydrogenases in relation to flooding tolerance in roots. J. Exptl Bot. 19 (60) : 435—441.
- Davidson D. C., 1949. The distribution of formic and alcohol dehydrogenase in higher plants with particular reference to the variation in the pea plant during its life cycle. Linn. Soc. of New South Wales 74, Part 1—2 (341—342) : 26—36.
- Efron Y., Schwartz D., 1968. *In vivo* inactivation of maize alcohol dehydrogenase by two-factor system. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 61 (2) : 586—591.
- Greeling M., 1973. Simultaneous induction by anaerobiosis or 2,4-D of multiple enzymes specified by two unlike genes: differential ADH1 — ADH2 expression in maize. Molec. and Gen. Genetics 127 (3) : 215—240.
- Hageman R. H., Flesher D., 1960. The effect of an anaerobic environment on the activity of alcohol dehydrogenase and other enzymes of corn seedlings. Arch. Biochem. Biophys. 87 (2) : 203—209.
- Hart G. E., 1969. Genetic control of alcohol dehydrogenase isozymes in *Triticum dicoccum*. Biochem. Genet. 3 (6) : 617—625.

- Jaaska Vilve, Jaaska Vello, 1969. Heterogeneity and tissue specificity of some enzymes in kidney bean. *ENSV TA Toimetised. Biologia* 18 (4) : 408—416.
- Kohl J.-G., Baierova J., 1973. Veränderungen des ADH-Isoenzympektrums der Maiswurzel bei partieller Anaerobiose. *Biochem. und Physiol. Pflanz.* 164 (5—6) : 624—628.
- Leblova S., Zimáková I., Barthová J., Echlichová D., 1971. On plant alcohol dehydrogenases. *Biol. Plantarum* 13 (1) : 33—42.
- Marcus A., Feeley J., 1964. Activation of protein synthesis in the inhibition phase of seed germination. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 51 (6) : 1075—1079.
- McMahon D., Blaschko W., 1971. Chloral hydrate inhibits protein synthesis *in vivo*. *Biochim. Biophys. Acta* 238 (1) : 338—342.
- Nordheim W., Müller G., 1963. Über die aerobe und anaerobe Äthylalkoholbildung von Getreidesamen und den Einfluß von 2,4-Dinitrophenol. *Monatsber. Deutsch. Akad. Wissensch. Berlin* 5 (2) : 73—75.
- Ruhland W., Ramshorn K., 1938. Aerobe Gärung in aktiven pflanzlichen Meristemen. *Planta* 28 (3) : 471—514.
- Scandalios J. G., Felder M. R., 1971. Developmental expression of alcohol dehydrogenase in maize. *Develop. Biol.* 25 (4) : 641—654.
- Schwartz D., 1969. An example of gene fixation resulting from selective advantage in suboptimal conditions. *Am. Naturalist* 103 (933) : 479—481.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
29/1 1975

Vilve JAASKA

IDANEMISTINGIMUSTE MÕJU ALKOHOLI DEHÜDROGENAASI ISOVORMIDELE NISU-, RUKKI- JA RIISITÕUSMETES

Resüme

Rukki *Secale cereale* L., diploidse nisu *Triticum monococcum* L. ja riisi *Oryza sativa* L. idanemata ja idaneva idu alkoholi dehüdrogenaas (ADH, EK 1.1.1.1.) jaotub elektrofooresil polüakrüülamiidgeelis enamasti kaheks fraktsiooniks, millest üks on domineeriv. Ööpäevane osaline anaerobioos vee all põhjustab ühepäevastes nisu- ja rukkitoosmetes uute, kiirema elektrofooreetilise liikuvusega ADH isovormide moodustumise, mis kaovad aeroobsete tingimuste taastudes. 20 mM (NH₄)₂HPO₄ inhibeerib osaliselt ja 2 mM 2,4-dinitrofenool täielikult ADH isovormide moodustumist rukkis ja nisus hapnikuvaeguse korral. Riisi kudedes anaerobioos uusi ADH isovorme ei indutseerinud. Ei täheldatud ka erinevusi kahe üleujutust erinevalt taluva riisisordi ADH spektrites.

Ohu käes säilib riisi lehes ADH aktiivsus vähemalt 13 ööpäeva jooksul, alates seemne idanemise algusest. Nelja-viiepäevastes aeroobsetes rukkii- ja nisutõusmetes ADH aktiivsus praktiliselt puudub. Selliste tõusmete asetamine ööpäevaks vee alla põhjustab nende lehtedes mitmete ADH isovormide moodustumise. Transkriptsiooniinhibiitor aktinomiitsiin D (50 µg/ml) ei takistanud anaerobioosi korral uute isovormide moodustumist kahepäevastes nisu- ja rukkitoosmetes, küll aga inhibeeris praktiliselt kõigi ADH isovormide moodustumist kuuepäevases rukkilehes.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Zooloogia ja Botaanika Instituut

Toimetusse saabunud
29. I 1975

Vilve JAASKA

THE EFFECT OF GERMINATION ENVIRONMENT ON THE ALCOHOL DEHYDROGENASE ISOFORM PATTERN IN WHEAT, RYE AND RICE SEEDLINGS

Summary

Polyacrylamide gel electrophoresis revealed one major and one-two minor bands of alcohol dehydrogenase (ADH, EC 1.1.1.1.) in ungerminated and germinated embryos of rye *Secale cereale* L., diploid wheat *T. monococcum* L., and rice *Oryza sativa* L. ADH activity decreased rapidly up to a scarcely detectable level in the four-to-five-day-old wheat and rye seedlings, while the leaf of rice retained its ADH activity after thirteen days of growth.

Several new faster-migrating ADH isoforms were induced in one-day-old germinated embryos of rye and wheat as a response to partial anaerobiosis by immersion for 24 h in water, 20 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, NH_4Cl or Na_2HPO_4 solutions. Incubation of five-day-old intact seedlings of rye for one day under water induced a series of ADH isoforms in submerged leaf. In contrast, incubation of rice seedlings under water for three to eight days caused no formation of any additional ADH isoforms but led to a significant increase in the activity of the existing two isoforms.

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (20 mM) inhibited partially and 2,4-dinitrophenol (2 mM) completely the formation of ADH isoforms in response to anaerobiosis. The inhibitor of transcription — actinomycin D (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) in the immersion medium had no effect on ADH induction in the germinated embryo, but strongly inhibited the enzyme induction in six-day-old etiolated rye leaf. The induction of additional ADH isoforms in germinating rye and wheat embryos under submerged conditions is not depending on the gene activation or due to *de novo* enzyme biosynthesis, but is considered to be due to modification of the basic form present in ungerminated embryos.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Zoology and Botany

Received
Jan. 29, 1975