

Н. СИСАКЯН и Б. РУБИН

**НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О ДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ НА ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ  
ФЕРМЕНТОВ ЖИВОЙ КЛЕТКИ ПРИ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ**

*(Представлено академиком А. Н. Бахом 16 VIII 1939)*

В предыдущем сообщении (1) нами было показано, что под влиянием низких температур ферментативная деятельность живой клетки претерпевает значительные изменения. При этом оказалось, что в листьях холодостойкого сорта яблони при низких температурах сохраняется довольно постоянное равновесие между синтезирующей и гидролизующей активностью ферментов. Листья же неустойчивого к холоду сорта теряют способность к синтезу обычно уже при 0°. Столь различное реагирование энзиматического аппарата на воздействие холода побудило авторов высказать предположение о том, что гибель растительной клетки от низких температур вероятно обусловлена необратимым смещением ферментного равновесия в сторону гидролиза. Однако ряд весьма существенных вопросов, связанных с внутренней природой морозоустойчивости растительного организма, оставался еще неисследованным.

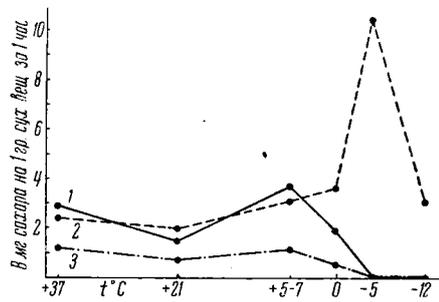
В физиологических исследованиях холодостойкости значительное место занимали вопросы, связанные с выяснением сущности так называемой химической защиты растения от вымерзания. В частности, исследованиями ряда авторов (2, 3, 4, 5 и др.) было показано, что растворы различных солей, а также сахара и ряд других химических соединений оказывают защитное действие при вымерзании растений. Специфическое значение указанных соединений, по мнению ряда авторов, заключается в том, что последние предотвращают коагуляцию белков.

Представлялось поэтому существенным выяснить, какое же влияние эти соединения оказывают на ферментативную систему живой клетки, когда последняя подвергается воздействию низких температур. В связи с этим нами была подвергнута изучению температурная кривая направленности действия инвертазы и протеаз в листьях яблони, которые искусственно обогащались тем или иным веществом, оказывающим защитное действие от мороза. Данная работа посвящена описанию результатов проведенных нами в этом направлении опытов.

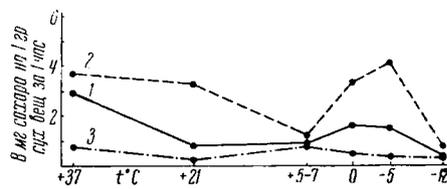
Объектами исследования служили листья сортов яблони «Борддорф-китайки» и «Кандиль-китайки» (первый из которых по сравнению со вторым отличается значительно повышенной морозоустойчивостью), а также листья земляники.

Изучение температурной кривой (фиг. 1 и 2) направленности действия инвертазы, которое проводилось методом Курсанова (6), показало, что

у холодостойкого сорта «Борсдорф-китайки» равновесие между синтезирующим и гидролизующим действиями инвертазы сохраняется на довольно высоком уровне даже при температурах ниже  $0^{\circ}$ . В этом отношении диаметрально противоположно ведет себя неустойчивый к холоду сорт «Кандиль-китайка». В полном соответствии с данными предыдущих опытов (1), мы и здесь отмечаем, что при температуре ниже  $0^{\circ}$  синтезирующая деятельность инвертазы у этого сорта исчезает, в то время как гидролитическая активность резко возрастает. При дальнейшем понижении темпе-

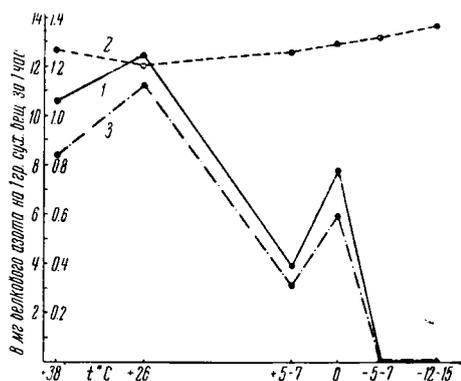


Фиг. 1. Обозначения для фиг. 1, 2, 3 и 4.  
 — синтез; - - - гидролиз;  
 - · - · отношение синтеза гидролизу

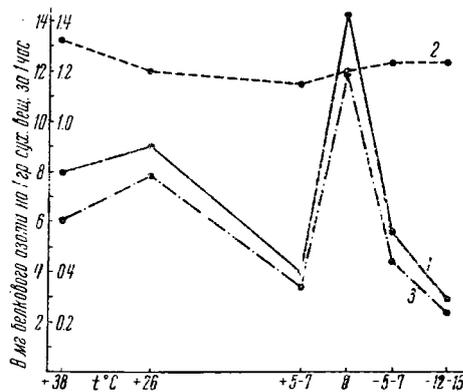


Фиг. 2.

ратуры у обоих сортов наблюдается снижение и гидролитической активности фермента (3). Заслуживает внимания то обстоятельство, что второй максимум синтезирующей активности у сорта «Кандиль-китайки» проявляется при довольно высокой температуре ( $7^{\circ}$ ), в то время как у сорта «Борсдорф-китайки» он сдвинут в сторону низкой температуры ( $0-5^{\circ}$ ). Максимум гидролитической активности инвертазы у обоих сортов проявляется при  $-5^{\circ}$ . Эти данные показывают, что в определении холодо-



Фиг. 3.



Фиг. 4.

стойкости растения существенное значение приобретает сохранение определяемого равновесия между созидательной и разрушающей деятельностью ферментов.

Близкие по своему характеру результаты получены нами при изучении синтезирующей методом Курсанова (7) и гидролизующей (8) способности протеаз (фиг. 3 и 4).

У сорта «Кандиль-китайка» при температуре ниже  $0^{\circ}$  синтезирующая способность протеаз полностью затухает, в то время как у сорта «Борсдорф-китайка» даже при  $-12, -15^{\circ}$  активность эта остается значительной. Максимум синтеза протеаз проявляется у «Кандиль-китайки» при температуре  $26^{\circ}$ , у «Борсдорф-китайки» он находится при  $0^{\circ}$ .

Таким образом, листья различных по своей стойкости к холоду сортов яблони реагируют на воздействие низких температур далеко неодинаково в отношении ориентации ферментативной активности в сторону синтеза или гидролиза. У нестойкого к холоду сорта воздействие низких температур приводит к односторонней гидролитической активности ферментов. У холодостойкого сорта синтезирующая деятельность ферментов сохраняется на значительном уровне при довольно низких температурах. Следовательно холодостойкость тесно связана, возможно и обусловлена, способностью растения удерживать равновесие между синтезирующим и гидролизующим действием ферментов на определенном, близком к начальной величине и свойственном данному сорту уровне.

Изучение защитного действия солей и глюкозы осуществлялось инфильтрацией последних в листья опытных растений за 24 час. до начала охлаждения. Первые опыты с инфильтрацией в листья двух сортов яблонь 0.3 N раствора KCl дали следующие результаты (табл. 1):

Таблица 1

Температура опыта в °C	Действие инвертазы в мг сахарозы на 1 г сухого вещества за 1 час						Сорт
	с H <sub>2</sub> O			с KCl			
	синтез I	гидролиз II	I II	синтез I	гидролиз II	I II	
0	0.9	3.2	0.28	1.6	1.9	0.84	«Кандиль-китайка» (нехолодостойкий)
-5,-7	0.1	4.2	0.02	4.2	4.5	0.93	
-12,-15	0.0	2.8	—	1.8	2.4	0.75	
0	6.7	7.0	0.96	6.1	6.0	1.02	«Борсдорф-китайка» (холодостойкий)
-5,-7	0.9	3.1	0.29	3.2	3.4	0.94	
-12,-15	0.2	4.0	0.05	2.9	3.5	0.83	

Как видно из табл. 1, введение раствора KCl резко изменяет направленность действия инвертазы. Раствор KCl не только способствует сохранению синтезирующей способности фермента, но наряду с этим значительно активизирует ферментативную деятельность живой клетки. Нестойкий к холоду сорт «Кандиль-китайка», который уже в пределах -5, -12° совершенно теряет активность к синтезу, при введении раствора KCl сильно повышает синтез. Аналогичную картину мы обнаруживаем и у сорта «Борсдорф-китайка». Повторные испытания влияния KCl, NaCl, и CaCl<sub>2</sub> на листьях земляники, результаты которых представлены в табл. 2, показали, что стимулирующее влияние на синтезирующую

Таблица 2

Температура опыта в °C	Действие инвертазы в мг сахарозы на 1 г сухого вещества за 1 час											
	с H <sub>2</sub> O			с KCl			с NaCl			с CaCl <sub>2</sub>		
	синтез I	гидролиз II	I II	синтез I	гидролиз II	I II	синтез I	гидролиз II	I II	синтез I	гидролиз II	I II
0	1.1	—	—	0.9	3.7	0.24	1.3	5.3	0.25	0.0	0.4	—
-2,-3	4.5	0.7	6.43	6.5	5.9	1.10	0.0	9.6	—	0.0	5.9	—
-5,-7	1.7	2.6	0.65	4.7	12.1	0.39	0.0	6.3	—	0.0	0.7	—

способность инвертазы оказывает лишь введение в живую ткань раствора KCl. Растворы NaCl, и в особенности CaCl<sub>2</sub>, сильно подавляют и даже инактивируют синтезирующую деятельность инвертазы. Положительное действие KCl сказывается не только на сохранении синтезирующей активности инвертазы, но также и на синтезирующей активности протеаз.

Таблица 3  
Листья яблони «Кандиль-китайка»

Температура опыта в °C	Синтезирующая способность протеаз в мг белкового азота на 1 г сух. вещества за 1 час	
	с H <sub>2</sub> O	с KCl
0	6.06	4.54
-5	0.0	7.22
-12	0.0	4.82

Цифры табл. 3 показывают, что синтезирующая деятельность протеаз в листьях, инфильтрованных водой, полностью исчезает уже при -5, -12°. Введение же KCl позволяет листьям в этих же температурных пределах сохранять довольно высокий уровень этой активности. Таким образом, защитное действие раствора KCl на синтезирующую сторону ферментативного аппарата живой растительной клетки выступает в этих опытах с полной определенностью. Эти наблюдения напоминают опыты других исследователей (9; 10), где путем введения KCl в живую ткань, а также и созданием определенного режима калийного питания растений в период вегетации удалось обнаружить более высокий уровень синтетических процессов в растениях. Несколько неожиданными оказались полученные нами результаты по глюкозе.

Следует указать, что предварительное введение раствора глюкозы 0.3N как при исследовании направленности действия инвертазы, так и синтезирующей способности протеаз привели к следующим результатам. Вопреки существующим в литературе представлениям, введение раствора последней в ткани листьев (0.3N) вызывало сильное подавление синтеза у инвертазы и протеаз. Одновременно наблюдали резкое усиление гидролитической способности фермента.

В связи с тем, что дальнейшая экспериментальная разработка проблемы нами в настоящее время осуществляется, мы пока воздерживаемся от сколько-нибудь окончательных выводов по последнему вопросу. Тем не менее, проведенные нами наблюдения подчеркивают, как нам представляется, необходимость пересмотреть ряд положений, связанных как с вопросом о факторах, регулирующих действие ферментов в живой клетке, так и с вопросом о роли глюкозы, которую принято рассматривать как один из важнейших факторов, определяющих устойчивость ткани к воздействию холода.

Институт биохимии  
Академия Наук СССР

Поступило  
2 IX 1939

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Н. М. Сисакян и Б. А. Рубин, Биохимия, 4, 149 (1939). <sup>2</sup> В. Liebig, Die wintergrüne, Flora (1907). <sup>3</sup> Н. А. Максимов, Журн. оп. агр., 13, кн. 1, 1 (1912). <sup>4</sup> Н. А. Максимов, Журн. оп. агр., 13, кн. 4, 497 (1912). <sup>5</sup> И. И. Туманов, Тр. прикл. бот., генет. и селекц., 25, вып. 3 (1931). <sup>6</sup> А. Л. Курсанов, Биохимия, 1, 263 (1936). <sup>7</sup> А. Л. Курсанов и К. Брюшкова, Биохимия, 3, вып. 5 (1938). <sup>8</sup> Н. Сисакян и А. Кобякова, Биохимия, 3, вып. 6 (1938). <sup>9</sup> А. Курсанов и Н. Крюкова, Биохимия, 2, вып. 4 (1937). <sup>10</sup> А. П. Щербakov, Биохимия, 3, 417 (1938).