

Т. В. ВОБЛИКОВА

## АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ У ГОРНЫХ РАСТЕНИЙ ЗАПАДНОГО ТЯНЬ-ШАНЯ

(Представлено академиком Н. В. Цициным 20 VII 1949)

Активность пероксидазы определялась в листьях высокогорных растений западного Тянь-Шаня, в районе заповедника Аксу-Джабаглы, по преимуществу в долине р. Кши-Кайнды, на высоте 1700—3100 м. Работа проводилась в полевой обстановке.

Активность фермента определялась гваяколовым методом Баха и Зубковой (1). Скорость окисления гваякола учитывалась с помощью фотоколориметра со стрелочным гальванометром, чувствительностью  $4 \cdot 10^{-7}$  а. Источником света для фотоэлемента служил дневной рассеянный свет.

Навеска листьев бралась на месте произрастания растения, здесь же растиралась с небольшим количеством воды и толуола (6). Затем добавлялось остальное количество воды. Объем последней брался в 10-кратном размере по отношению к навеске листьев. Вытяжка оставлялась при  $25^\circ$  на 2 суток, после чего для определения бралось 2 мл фильтрата + 10 мл воды + 0,7% водного раствора гваякола + 2 мл 1%  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

В контрольную пробу вместо перекиси водорода прибавлялось соответствующее количество воды. Момент внесения  $\text{H}_2\text{O}_2$  в смесь, являющийся началом реакции, отмечался по секундомеру, и затем через определенные промежутки времени снимались показания гальванометра. Если активность фермента оказывалась слишком большой и окисление гваякола заканчивалось через несколько минут или даже секунд, то фильтрат разбавлялся водой так, чтобы к концу реакции стрелка гальванометра не доходила до нуля шкалы.

Скорость реакции выражалась константой скорости мономолекулярной реакции по уравнению

$$K = \frac{2,3}{t} \lg \frac{a}{a-x},$$

где  $a$  для наших условий являлось разностью между показаниями гальванометра для контроля и для смеси фермент +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + гваякол в конце реакции окисления последнего;  $x$  — разность этих показаний для каждого момента времени  $t$  хода реакции.

Из полученных констант вычислялся затем термический коэффициент Вант-Гоффа  $Q_{10}$  и коэффициент  $\mu$ , на основании которых можно судить о качестве фермента в понимании проф. А. В. Благовещенского. А именно, фермент, обладая разным качеством в зависимости от того, из какого рода и даже вида растения или животного он получен, будет с различной скоростью осуществлять реакцию при одних и тех же условиях и неодинаково будет изменять ее при изменении этих условий (3, 4).

Таблица 1

Название растений	Время сбора	Высота в м	Активность пероксидазы на 1 г сух. вец.		Q <sub>10</sub>	μ	Оксигеназа
			T <sup>o</sup>	K			
<b>Сем. Ranunculaceae</b>							
<i>Trollius altaicus</i> C.A.M. <sup>1)</sup> . . . . .	21 VII	2500	—	—	—	—	
<i>Ranunculus rufocephalus</i> Franchet.	4 VIII	3000	25	4,40	—	—	+ устойч.
То же . . . . .	25 VIII	2500	10	3,86	1,69	8600	+ устойч.
			20	6,54			
<i>Delphinium oreophilum</i> Huth. . . . .	4 VIII	3100	25	18,49	—	—	+ устойч.
<i>D. confusum</i> M. Pop. <sup>2)</sup> . . . . .	24 VII	1700	—	—	—	—	
<i>Aconitum zeravschanicum</i> Steinb.	21 VIII	3200	10	8,46	1,76	9300	+
			20	14,90			
<i>Thalictrum isopyroides</i> C.A.Mey <sup>1)</sup>	8 VIII	1700	—	—	—	—	
<i>Clematis orientalis</i> L. <sup>1)</sup> . . . . .	8 VIII	1700	—	—	—	—	
Среднее . . . . .	—	—	—	—	1,72	9000	
<b>Сем. Leguminosae</b>							
<i>Medicago tianschanica</i> Vass. <sup>2)</sup> . . . . .	24 VII	1700	10	3,73	1,47	6300	—
			20	5,49			
<i>Astragalus Sieversianus</i> Pall . . . . .	30 VII	1700	25	19,28	—	—	+ неустойч.
То же <sup>4)</sup> . . . . .	9 VIII	1700	10	11,52	1,09	960	
			25	12,56			
<i>A. severzovii</i> Bge <sup>5)</sup> . . . . .	30 VII	1700	25	16,02	—	—	
То же <sup>7)</sup> . . . . .			10	14,91	1,28	4600	+ устойч.
			20	19,11	1,29	4600	
То же <sup>6)</sup> То же <sup>8)</sup> . . . . .	26 VIII	1700	30	24,65	1,65	4300	
То же <sup>3)</sup> . . . . .	26 VII	1700	20	18,49	1,62	7900	
<i>A. sarbasnensis</i> B. Fedtsch. . . . .	30 VII	1700	25	27,88	—	—	
<i>Oxytropis tschimganica</i> Gontsch. . . . .	21 VIII	3100	10	8,00	1,06	600	
			20	8,50			
<i>O. immersa</i> (Baker) Bge . . . . .	4 VIII	3100	10	15,02	1,66	5700	+ нестойк.
			25	24,89			
<i>O. terekensis</i> B. Fedtsch. . . . .	21 VIII	3100	10	6,23	1,49	6600	
			20	9,31			
<i>Hedysarum Semenovii</i> Rgl. et Herd. <sup>1)</sup> . . . . .	1 VIII	1700	—	—	—	—	
<i>H. Fedtschenkoanum</i> Rgl. et Schmalh. <sup>1)</sup> . . . . .	30 VII	1800	—	—	—	—	
<i>Onobrychis echidna</i> Lipsky <sup>1)</sup> . . . . .	10 VIII	2300	—	—	—	—	
<i>Vicia kokanica</i> Rgl. et Schmalh. . . . .	10 VIII	1800	8	33,17	—	—	
			23	44,90	1,35	3300	
<i>Lathyrus pratensis</i> L. . . . .	1 VIII	1700	25	6,98	—	—	
Среднее . . . . .	—	—	—	—	1,32	3600	
<b>Сем. Compositae</b>							
<i>Artemisia dracunculus</i> L. <sup>1)</sup> . . . . .	14 VIII	1700	—	—	—	—	Сначала зеленет затем синее
<i>Jurinea algida</i> Iljin . . . . .	21 VIII	3100	10	3,84	2,66	16100	+ устойч.
			20	10,22			
<i>Waldheimia tomentosa</i> (Tecu.) Rgl. <sup>1)</sup>	25 VIII	2500	—	—	—	—	
<i>W. Korolkowi</i> Rgl. et Schmalh. <sup>1)</sup> . . . . .	25 VIII	2500	—	—	—	—	
То же . . . . .	25 VIII	2500	10	0,45	1,47	6300	—
			20	0,66			
<i>Taraxacum alpinum</i> (Hoppe) Hegetschw. et Hur. . . . .	26 VIII	2500	10	9,41	1,50	6700	+
			20	14,14			
То же <sup>2)</sup> . . . . .	23 VIII	2500	20	0,61	1,44	6000	—
			20	0,88			

Таблица 1 (продолжение)

Название растений	Время сбора	Высота в м	Активность пероксидазы на 1 г сух. вец.		Q <sub>10</sub>	μ	Оксигеназа
			T°	K			
Сем. Malvaceae							
<i>Althaea nudiflora</i> Lindl. . . . .	9 VIII	1700	10 25	10,32 23,83	2,31	9300	Медленно дает голуб. окр.
Сем. Fumariaceae							
<i>Corydalis Gortschakowi</i> Schrenk. <sup>9)</sup>	25 VIII	2700	—	—	—	—	+
То же <sup>3)</sup> . . . . .	25 VIII	2700	10 20	1,34 3,34	2,49	15000	—
Сем. Labiatae							
<i>Mentha piperita</i> Juz. <sup>1)</sup> . . . . .	14 VIII	1700	—	—	—	—	Постепен. появ. жел.-син. оттенок
<i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam. . .	21 VIII	3100	10 20	3,15 7,20	2,28	13600	

Примечание: 1) от H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> смесь просветляется; 2) листья старые; от H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> смесь просветляется; 3) реакция проведена через 5,5 мес. после взятия пробы; 4) вторичная вегетация; 5) плодоношение; 6) Q<sub>10-20</sub>; 7) Q<sub>20-30</sub>; 8) Q<sub>10-30</sub>; 9) дает реакцию на пероксидазу, но через 1 мин. смесь просветляется.

«Ферментный аппарат, — по В. Ф. Купревичу (5), — представляет единственное орудие активного воздействия на окружающую среду», поэтому качество фермента (т. е. способность снижать энергию активации катализируемой реакции) может быть одним из показателей степени приспособленности растения к исследуемым условиям.

Для получения показателей качества пероксидазы окисление гваякола (или определение активности пероксидазы) проводилось при двух температурах, разность которых бралась до некоторой степени в зависимости от окружающей обстановки. Реакция продолжалась иногда свыше 1 часа, в течение которого необходимо было поддерживать постоянно температуры, что можно достигнуть, выдерживая пробы в водяной бане на воздухе в тени, или в родниках.

В исследование намечались представители сем. Ranunculaceae, Rosaceae, Leguminosae и Compositae, являющиеся: первое — филогенетически старым и последние два — филогенетически молодыми, обладающими и в наше время большой способностью к видообразованию, особенно в горных областях. В дальнейшем розоцветные были исключены из анализа, так как пероксидаза в них не обнаруживалась ни по методу Любименко, ни по Николаеву и Шипициной, на что есть указания и в литературе (2).

Кроме представителей указанных выше семейств, были проведены анализы у некоторых приснежных растений, обладающих очень коротким вегетационным периодом.

Растения брались в анализ обычно в период цветения.

В табл. 1 приведены данные по всем исследованным растениям.

Из табл. 1 видно, что во взятых для исследования семействах имеются представители, у которых не была обнаружена ни пероксидаза, ни оксигеназа, например *Hedysarum Semenovii*. Наряду с этим другие растения дали хорошую реакцию на оба эти фермента. У некоторых растений интенсивное посинение с гваяковой смолой получалось почти мгновенно с устойчивой (свыше 14 час.) окраской; у других, наоборот, окраска была очень нестойкой, исчезающей через несколько минут, или

появлявшейся постепенно; у иных вначале появлялась зеленая окраска, постепенно переходившая в синюю. Интересное явление отмечено у *Waldheimia Korolkowi*: пероксидаза у нее не была обнаружена в первые дни экстрагирования. Но через 5,5 мес. стояния неотфильтрованной вытяжки при комнатной температуре обнаружена типичная реакция с гваяколом, хотя константа скорости была значительно меньше ее обычных значений; в фильтрате же через этот же промежуток времени по-прежнему не было реакции на пероксидазу. С оксигеназой получилось противоположное явление: положительная реакция с гваяковой смолой в первые дни экстрагирования исчезла через 5,5 мес. Аналогичное явление отмечено и для *Corydalis Gortschakowi*.

В вытяжке (неотфильтрованной) из *Taraxacum alpinum* активность пероксидазы сохранилась в течение 5,5 мес. и, хотя константа скорости оказалась значительно меньше своего первоначального значения, термический коэффициент остался почти без изменения. В высушенных листьях *Taraxacum* пероксидаза не была обнаружена.

Обращает на себя внимание низкий термический коэффициент у двух представителей *Leguminosae*, именно, у *Astragalus Sieversianus* ( $Q_{15} = 1,09$ ) и у *Oxytropis tschimganica* ( $Q_{10} = 1,06$ ) (у обоих растений были взяты молодые листья вторичной вегетации). Следует отметить, что *Astragalus Sieversianus* встречается как в увлажненных местах, так и среди горячих камней под прямыми лучами солнца. В обоих случаях он имел прекрасный свежий вид.

Из сем. *Compositae* у двух взятых представителей — *Waldheimia Korolkowi* и *Taraxacum alpinum* — величина термического коэффициента оказалась сравнительно небольшой, почти одной и той же у обоих родов. У *Jurinea algida*, наоборот, он оказался очень высоким. Но нужно отметить, что пробы с *Jurinea* взяты в конце вегетации, а с *Waldheimia* и *Taraxacum* в начале цветения.

Кроме перечисленных растений, термический коэффициент был определен у *Althaea nudiflora* из сем. *Malvaceae* и *Ziziphora clinopodioides* из *Labiatae*. Оба растения имеют широкое распространение, но первое не поднимается выше 2000 м, второе же встречается и выше, достигая 3100 м по защищенным местам. Оба растения дали высокие показатели термического коэффициента.

При сравнении значений термического коэффициента у представителей разных семейств, взятых в исследование, видно, что у представителей сем. *Leguminosae*  $Q_{10}$  значительно ниже, чем у представителей других семейств — *Ranunculaceae*, *Malvaceae*, *Labiatae* и *Fumariaceae*, но активность фермента у них может быть такой же, как и у представителей сем. *Leguminosae*.

Таким образом, этот предварительный материал подтверждает представление проф. А. В. Благовещенского о том, что филогенетически молодые семейства имеют более низкое значение термического коэффициента и, следовательно, высокое качество ферментов по сравнению с семействами филогенетически старыми. Однако внутри каждого семейства могут быть отклонения от этого общего правила.

Главный ботанический сад  
Академии наук СССР

Поступило  
23 VI 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. Н. Бах и С. Р. Зубкова, Сб. работ по чист. и прикл. химии, 1, 1923.  
<sup>2</sup> А. В. Благовещенский, Синтез орган. вещества и роль витаминов в растении, 1940. <sup>3</sup> А. В. Благовещенский, Биохимия, 2, 2 (1937). <sup>4</sup> А. В. Благовещенский, Журн. общ. биол., 4, 4 (1945). <sup>5</sup> В. Ф. Купревич, Физиология больного растения, 1947. <sup>6</sup> В. Н. Любименко, О превращении пигментов пластид в живой ткани растения, 1916.