

Е. В. КОЛОБКОВА

## ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ ЛИСТЬЕВ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ УДАЛЕННЫХ ФОРМ РАСТЕНИЙ

(Представлено академиком Н. В. Цициным 7 VII 1949)

Согласно предположениям А. В. Благовещенского, подтвердившимся рядом экспериментальных исследований, формы растений, принадлежащие к энергично развивающимся филогенетически молодым группам, обладают более высоким энергетическим потенциалом, чем формы филогенетически старые (1).

Об энергетическом уровне растения можно судить, до известной степени, по качеству ферментов: чем выше это качество, тем выше энергетический уровень растений. Качество фермента тем выше, чем сильнее фермент снижает энергию активации катализуемой им реакции, чем меньше по своему абсолютному значению коэффициент  $\mu$  в уравнении Аррениуса или температурный коэффициент Вант-Гоффа  $Q_{10}$ .

На качество ферментов оказывают влияние резкие внешние условия, действующие на протоплазму растения и вызывающие нарушения в обмене веществ. Приспособиться к таким условиям могут растения, энергетически стоящие на достаточно высоком уровне. Другими словами, значения  $\mu$  и  $Q_{10}$  для ферментных реакций этих растений должны быть низкими по сравнению с тем, что имеет место для ферментных реакций растений из областей, где сказывается влияние резких внешних условий. Сравнительные исследования А. В. Благовещенского (2), и К. И. Страичцкого (3), проведенные на растениях пустынь и гор Средней Азии с таким ферментом, как каталаза, оправдали это последнее предположение.

Задачей данной работы было показать, что протеолитические ферменты листьев растений, принадлежащих к одному какому-либо семейству, будучи по своему качеству относительно одинаковыми, отличаются от ферментов листьев растений других семейств.

Было также интересно проследить, как влияют резкие внешние условия, в частности высокая континентальность климата гор Средней Азии, на качество протеолитических ферментов листьев ряда растений. Для этого летом 1948 г. было проведено определение температурных коэффициентов протеолитических ферментов в листьях у ряда растений из сем. Leguminosae, Rosaceae и Ranunculaceae, стоящих на разных ступенях филогенетического развития. Работа проводилась в горах западного Тянь-Шаня, в районе Аксу-Джебаглинского заповедника.

Методика опытов по исследованию активности и качества протеаз была следующая: 25 г листьев (средняя проба) тщательно растирались в ступке с 125 мл фосфатного буфера (рН = 5,91). Для активирования фермента к полученной болтушке прибавлялся сернистый натр с таким расчетом, чтобы его конечная концентрация была равна 0,1%, и смесь оставлялась при комнатной температуре на 1 час. Затем

пипеткой на 25 мл брались пробы и переносились в толстостенные пробирки на 50 мл. Таких проб бралось пять. В каждую пробу прибавлялось по 5 мл 6% казеина (конечная концентрация 1%) и толуол. Две пробы ставились при температуре 14°, две другие при 24°, а пятая проба немедленно исследовалась как контрольная. Аминный азот определялся прибором Д. Цуверкалова (4). Так как определения проводились на высоте 1800 м, то при перечислении миллилитров газообразного азота на миллиграммы аминного азота были введены соответствующие поправки.

Из полученных данных вычислялись константы скорости мономолекулярной реакции по формуле  $K = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$  для 24-, 48-, 72- и 96-часовой экспозиций. Активность выражалась средней константой мономолекулярной реакции, перечисленной на 1 г сухого вещества.

Отношение констант скорости  $K_{24}$  и  $K_{14}$  давало температурный коэффициент реакции  $Q_{10}$ , а из него вычислялись значения коэффициента  $\mu$  для данного интервала температуры по формуле Аррениуса:

$$\mu = R \ln \frac{K_{24}}{K_{14}} \frac{T_1 T_2}{T_2 - T_1}$$

Полученные данные представлены в табл. 1.

Таблица 1

| Название растения                       | Стадия развития и время сбора | Активность на 1 г сух. вещ. |         | $Q_{10}$ | $\mu$ |
|---|-------------------------------|-----------------------------|---------|----------|-------|
|   |                               | 14°                         | 24°     |          |       |
| Сем. Leguminosae                        |                               |                             |         |          |       |
| <i>Vicia kokanica</i> . . . . .         | Плоды 23 VII                  | 0,00179                     | 0,00246 | 1,34     | 5000  |
| <i>Hedysarum semenovi</i> . . . . .     | » 11 VIII                     | 0,00156                     | 0,00241 | 1,56     | 7600  |
| <i>Medicago tianschanica</i> . . . . .  | Цветы 24 VII                  | 0,00247                     | 0,00407 | 1,65     | 8500  |
| <i>Oxytropis immersa</i> . . . . .      | » 4 VIII                      | 0,00376                     | 0,00637 | 1,70     | 9000  |
| <i>Lathyrus pratensis</i> . . . . .     | Цветы и плоды 11 VIII         | 0,00176                     | 0,00341 | 1,94     | 11200 |
|   |                               |                             | Среднее | 1,64     | 8300  |
| <i>Astragalus severzovi</i> . . . . .   | Плоды 30 VII                  | 0,00096                     | 0,00249 | 2,60     | 16300 |
| <i>A. sieversianus</i> . . . . .        | » 26 VII                      | 0,00109                     | 0,00326 | 3,00     | 18700 |
| <i>A. vicarius</i> . . . . .            | » 30 VII                      | 0,00081                     | 0,00266 | 3,27     | 20200 |
| Сем. Ranunculaceae                      |                               |                             |         |          |       |
| <i>Delphinium oreophyllum</i> . . . . . | Цветы 4 VIII                  | 0,00457                     | 0,00624 | 1,35     | 5100  |
| <i>Clematis orientalis</i> . . . . .    | Цветы и бутоны 9 VIII         | 0,00233                     | 0,00463 | 1,98     | 11600 |
| <i>Delphinium confusum</i> . . . . .    | Плоды и цветы 24 VII          | 0,00246                     | 0,00563 | 2,20     | 14000 |
| <i>Thalictrum isopyroides</i> . . . . . | Плоды 12 VIII                 | 0,00139                     | 0,00306 | 2,20     | 14000 |
| <i>Ranunculus rufosepalus</i> . . . . . | Цветы 4 VIII                  | 0,00217                     | 0,00516 | 2,37     | 14700 |
| <i>Aquilegia lactiflora</i> . . . . .   | » 8 VIII                      | 0,00111                     | 0,00264 | 2,38     | 14800 |
| <i>Trollius altaicus</i> . . . . .      | » 4 VIII                      | 0,00083                     | 0,00233 | 2,80     | 17600 |
|   |                               |                             | Среднее | 2,18     | 12900 |

Как показали результаты исследований у представителей сем. Leguminosae,  $Q_{10}$  колеблется в пределах от 1,35 у *Vicia kokanica* до 1,94 у *Lathyrus pratensis*. Исключение составляют представители рода *Astragalus*, давшие очень высокие значения  $Q_{10}$  и, следовательно, высокие значения  $\mu$ . Это, повидимому, объясняется тем, что они находились в конце плодоношения (семена осыпались), следовательно, явля-

лись старыми (онтогенетически) растениями, а, как показал А. В. Благовещенский, старые листья обнаруживают более высокие термические коэффициенты, чем молодые.

У представителей сем. Ranunculaceae температурный коэффициент  $Q_{10}$  выше, чем у представителей сем. Leguminosae, и доходит до  $Q_{10} = 2,80$ . Наименьший  $Q_{10}$  был получен у высокогорного *Delphinium oreophyllum*:  $Q_{10} = 1,35$ . У остальных представителей этого семейства  $Q_{10} > 2$ .

Если вычислить среднее значение  $Q_{10}$  для каждого семейства, то для сем. Leguminosae (исключив *Astragalus*) получим  $Q_{10} = 1,64$ , а для сем. Ranunculaceae  $Q_{10}$  будет равно 2,18. Получается достаточно резкая разница. Это стоит в связи с тем, что Leguminosae являются молодым семейством, переживающим эпоху своего полного расцвета и стоящим, несомненно, на более высоком энергетическом уровне, чем Ranunculaceae являющиеся более старым семейством с пониженным энергетическим уровнем.

Для растений сем. Rosaceae данные не были получены, так как протеолитические ферменты листьев всех исследованных растений (например, *Rosa* sp., *Pirus malus*, *Potentilla* sp. и др.) не проявили никакой активности в наших условиях опыта.

Кроме изучения активности и качества протеолитических ферментов, у всех исследованных растений было определено содержание общего азота. Определения производились микрометодом Кьельдаля на сухом материале (табл. 2).

Таблица 2

| Сем. Leguminosae                         | Колич. азота<br>в мг на 1 г<br>сух. вещ. | Сем. Ranunculaceae                      | Колич. азота<br>в мг на 1 г<br>сух. вещ. |
|--|--|---|--|
| <i>Lathyrus pratensis</i> . . . . .      | 31,31                                    | <i>Delphinium confusum</i> . . . . .    | 16,51                                    |
| <i>Astragalus severzovi</i> . . . . .    | 34,35                                    | <i>Thalictrum isopyroides</i> . . . . . | 17,86                                    |
| <i>Nadysarum semenovi</i> . . . . .      | 34,38                                    | <i>Delphinium oreophyllum</i> . . . . . | 22,35                                    |
| <i>Vicia kokanica</i> . . . . .          | 35,48                                    | <i>Clematis orientalis</i> . . . . .    | 23,33                                    |
| <i>Medicago tianschanica</i> . . . . .   | 37,05                                    | <i>Aquilegia lactiflora</i> . . . . .   | 23,53                                    |
| <i>Oxytropis immersa</i> . . . . .       | 42,92                                    | <i>Trollius altaicus</i> . . . . .      | 33,57                                    |
| <i>Astragalus sieversianus</i> . . . . . | 47,90                                    | <i>Ranunculus rufosepalus</i> . . . . . | 39,00                                    |
| Среднее . . . . .                        | 37,64                                    | Среднее . . . . .                       | 25,16                                    |

Содержание общего азота у горных представителей сем. Leguminosae выше, чем у горных же представителей сем. Ranunculaceae. Так, среднее содержание азота у Leguminosae около 38 мг на 1 г сухого вещества, а у Ranunculaceae оно равно 25 мг.

В сем. Leguminosae наибольшим содержанием азота обладает *Astragalus sieversianus* (около 48 мг на 1 г сухого вещества) и высокогорный *Oxytropis immersa* (43 мг); наименьшее содержание азота в 31 мг наблюдалось у *Lathyrus pratensis*. В сем. Ranunculaceae высокогорный *Ranunculus rufosepalus* дал наибольшее содержание азота — около 39 мг; наименьшее же содержание азота в этом семействе наблюдалось у *Delphinium confusum* — около 17 мг.

Поступило  
7 VII 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. В. Благовещенский, Бюлл. эксп. биол. и мед., 2, 390 (1926); Биохимия, 2, 154 (1937); Enzymologia, 4 (1938); Усп. совр. биол., 11, в. 2, 320 (1939).  
<sup>2</sup> А. В. Благовещенский, Юбил. сборн. В. Л. Комарову, 123 (1938).  
<sup>3</sup> К. И. Страцицкий, Бюлл. эксп. биол. и мед., 5, 546 (1938). <sup>4</sup> Д. Цувержалов, Биохимия, 6, в. 3 (1941).