

Н. И. ПРОСКУРЯКОВ и М. А. СУЕТИНА

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ЖОЛУДЕЙ

(Представлено академиком А. И. Опариным 6 I 1951)

Известно, что одним из необходимых условий сохранения жизнеспособности жолудей является поддержание в них влажности на первоначальном уровне, свойственном зрелым, только что опавшим жолудям (1). Но поддержание влажности на высоком исходном уровне возможно только при пониженных температурах (около 0° или немного выше) во избежание преждевременного прорастания и порчи жолудей. Вопрос же о необходимом при хранении газовом режиме, а именно, нужен ли приток свежего воздуха извне или, наоборот, выгоднее помещать жолуди в условия с замедленным газообменом и повышенным содержанием в среде углекислого газа, — остается пока неясным.

Почти полное отсутствие данных о происходящих в жолудях в процессе хранения биохимических изменениях послужило причиной постановки настоящего исследования.

Целью настоящей работы было проследить за изменением активности некоторых окислительных ферментов в хранящихся жолудях, наряду с определением интенсивности дыхания в них.

Жолуди хранились россыпью в ящиках, помещенных в холодильные камеры при 0° и при +3° в течение декабря — апреля 1949—1950 гг. Влажность жолудей на протяжении всего периода хранения почти не менялась вследствие высокой относительной влажности воздуха в камерах. Несмотря на хранение при пониженных температурах, качество жолудей по прошествии 5 мес. заметно снизилось за счет развития грибной, по преимуществу, микрофлоры. Эта частичная порча обуславливалась, по видимому, невысоким качеством исходного материала.

Присутствие в жолудях значительного количества дубильных веществ сильно затрудняло определение некоторых ферментов и не позволило установить, например, предполагавшееся наличие дегидраз, несмотря на предварительное извлечение дубильных веществ ацетоном и применение в опытах пептона. Действие тирозиназы также не могло быть обнаружено.

В работе определялись в основном ферменты: каталаза, пероксидаза и полифенолоксидаза. Каталаза определялась при 0° в течение 15-минутного действия по остаточной H_2O_2 , учитываемой иодометрическим методом, и по выделению кислорода — газометрическим методом. Добавление пептона при растирании жолудей не способствовало увеличению активности каталазы во взвесах. В ацетоновых препаратах из жолудей по методике М. А. Бокучава (2) также не наблюдалось повышения активности каталазы по сравнению с сырым материалом. Пероксидаза и полифенолоксидаза учитывались по модификации, описанной С. М. Прокошевым (3), причем субстратом служил 1% раствор пирогаллола.

Определение активности пероксидазы и полифенолоксидазы проводилось как в сырых жолудях, так и в ацетоновых препаратах, где активность этих ферментов была несколько ниже, что, может быть, обуславливалось незначительной инактивацией ферментов при обработке жолудей ацетоном. Ставились опыты по влиянию слабого подщелачивания на десорбцию исследуемых ферментов. Оказалось, что при часовом извлечении фосфатной смесью рН 6,9 воднорастворимая фракция обоих ферментов составляла 20,5% от общего количества ферментов во взвеси, но увеличивалась по мере повышения рН, доходя до 31,4 и 44%, соответственно, при рН 8,0 и 9,0.

Обычно бралось по 4—5 здоровых, очищенных от кожуры жолудей, которые тщательно растирались с промытым и прокаленным песком вместе с фосфатной смесью рН 6,9 из расчета 10 мл смеси на 1 г материала. Одновременно с опытом ставился также и контроль с прокипяченной взвесью.

Было установлено, что каталаза присутствует в зрелых и здоровых жолудях в адсорбированном состоянии и в раствор не переходит даже при длительном (до 15 час.) настаивании. Определение каталазы в растертом материале с буфером рН 6,9 показало, что ее активность в значительной степени зависит от физиологического состояния жолудей. Так, в подсохших, с темными пятнами и дряблых жолудях активность каталазы оказалась приблизительно вдвое ниже, нежели в здоровых, способных к прорастанию. В отдельных жолудях активность каталазы колебалась, хотя в сравнительно небольших пределах.

Данные о нахождении окислительных ферментов в различных частях жолудя приведены в табл. 1, откуда видно, что активность пероксидазы и полифенолоксидазы в зародышевой части была значительно выше, чем в целых жолудях, в то время как в активности каталазы не наблюдалось сколько-нибудь значительной разницы.

Таблица 1
Активность ферментов в различных частях жолудя
(на 1 г сух. вещ.)

Объект исследования	Пероксидаза в мг пурпуро- галлина	Полифенол- оксидаза в мг пурпурогал- лина	Каталаза	
			в мл 0,1 N Na ₂ S ₂ O ₅	в мл 0
Зародышевая часть	323,9	8,9	49,5	24,3
Целые жолуди	22,63	1,23	37,0	17,3

В опытах с прорастанием жолудей было обнаружено, что активность окислительных ферментов, особенно полифенолоксидазы, при прорастании заметно возрастала (см. табл. 2).

Таблица 2
Изменение активности ферментов при прорастании жолудей
(на 1 г сух. вещ.)

Сроки прорастания	Пероксидаза в мг пурпуро- галлина	Полифенол- оксидаза в мг пурпурогаллина	Каталаза в мл 0,1 N Na ₂ S ₂ O ₅
Исходный материал	22,63	1,24	37,2
После 12 дн. прорастания	35,87	5,66	65,0
После 20 дн. прорастания	44,0	6,59	77,0

Ферменты в жолудях определялись периодически в течение хранения, причем данные по их активности при хранении при 0° и при +3° практически не отличались друг от друга (см. табл. 3).

Таблица 3

Активность ферментов в жолудях, хранившихся при 0°
(на 1 г сух. вещ.)

Сроки взятия проб	Пероксидаза в мг пурпу- рогаллина		Полифеноксидаза в мг пурпурогаллина		Каталаза в сырых жолудях	
	в сырых жолудях	в ацетон. препарат.	в сырых жолудях	в ацетон. препарат.	в мл 0,1 N Na ₂ S ₂ O ₈	в мл O ₂
Декабрь, первая поло- вина	—	—	—	—	38,1	—
Февраль, первая поло- вина	25,80	23,95	1,16	0,59	34,3	17,1
Март, вторая половина	24,89	20,84	1,20	0,71	33,9	16,7

Из данных табл. 3 видно, что активность исследованных ферментов за период хранения (с декабря до конца марта) оставалась почти на одном и том же уровне.

В те же сроки отбирались пробы жолудей для определения энергии дыхания. Исследование дыхания здоровых и освобожденных от кожуры жолудей проводилось в сосудах с просасыванием через газовый фильтр; выделяющаяся CO₂ учитывалась с помощью раствора барита. Опыты ставились при тех же температурах, как и при хранении. Из данных табл. 4 следует, что дыхание жолудей протекало приблизительно на одинаковом уровне и наблюдалась лишь незначительная тенденция к возрастанию дыхания в жолудях, хранившихся при +3°.

Таблица 4

Интенсивность дыхания жолудей (в мг CO₂ за 1 час на 100 г сух. вещ.)

	Декабрь	Февраль		Март	
		0°	+3°	0°	+3°
Количество CO ₂ в мг на 100 г сух. вещ.	6,28	6,58	8,07	6,46	7,77

Наличие в жолудях активных окислительных систем было подтверждено опытами с окислением прибавляемой извне аскорбиновой кислоты. Водные взвеси жолудей окисляли аскорбиновую кислоту буквально в течение нескольких минут, чему способствовало также и возможное наличие в материале хинонов.

Из приведенных данных можно заключить, что во время зимнего хранения жолудей при 0 и +3° активность окислительных ферментов и интенсивность дыхания в здоровых жолудях не претерпевали значительных изменений, а оставались приблизительно на одном уровне.

Биолого-почвенный научно-исследовательский институт
Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова

Поступило
29 XII 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Л. Ф. Правдин, Лес и степь, 9, 33 (1950). ² М. А. Бокучава, Т. А. Шуберт и В. Р. Попов, Биохимия, 13, 42 (1948). ³ С. М. Прокошев, Биохимия, 9, 36 (1944).