

А. В. КОТЕЛЬНИКОВА

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ КАРТОФЕЛЯ НА АКТИВНОСТЬ АПИРАЗЫ В КЛУБНЯХ

(Представлено академиком А. И. Опариным 30 III 1951)

В настоящее время накопилось уже достаточно данных, показывающих, что аденозинфосфорные кислоты, играющие столь важную роль у животных организмов, принимают участие в процессах обмена веществ также и у растений, однако значение их и особенности превращений у растений изучены недостаточно.

Одним из фактов, подтверждающих предположение о важной физиологической роли аденозинфосфорных кислот у растительных организмов, является открытие в клубнях картофеля фермента апиразы⁽¹⁾, отщепляющего оба лабильных фосфата от аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Большая активность апиразы в клубнях, зависимость активности от срока хранения клубней, а также и от сортовых различий картофеля⁽²⁾ показывают, что апиразная активность тесно связана с протеканием физиологических процессов в клубнях.

Мы поставили своей задачей изучить, как меняется в различных условиях выращивания картофеля активность апиразы в клубнях.

Исследование проводилось на клубнях сорта Лорх, посаженных в ИКХ* 18 V 1950 г. на участках: 1) с богатым минеральным и органическим удобрением (NPK по 60 кг/га каждого, навоза по 50 т/га); 2) с богатым минеральным и средним органическим удобрением (NPK по 60 кг/га каждого, навоза по 30 т/га) и, наконец, 3) без удобрения.

На участках с удобрениями по каждому типу удобрений было заложено одинаковое число делянок с калийным удобрением в виде K_2SO_4 и в виде KCl с эквивалентным содержанием калия для выяснения роли хлоридов в процессе крахмалообразования в клубнях. Образцы клубней брались, как правило, в два срока — в начале августа, когда клубни были молодыми, и сразу после снятия урожая 10 IX 1950 г. Пробы отбирались с делянок в трех повторностях, однако ввиду того, что по независящим от Лаборатории физиологической химии обстоятельствам в разные сроки были получены образцы разных повторностей, сравнение по срокам на каждом фоне удобрения оказалось возможным провести только на двух совпадающих повторностях. Это ограничение заставляет рассматривать полученные данные лишь как предварительные, нуждающиеся в проверке на большем числе повторностей.

* Вся агро-техническая часть работы проводилась Институтом картофельного хозяйства в соответствии с методами, принятыми для получения стахановских урожаев картофеля. За предоставление опытного материала приношу благодарность зам. директора института А. И. Тамман и Г. С. Жуковой.

Из полученных образцов клубней по возможности быстрее отбирались средние по величине пробы в 5—10 клубней, из каждого клубня, очищенного от кожуры, сверлом вдоль по длине клубня и поперек вырезались цилиндрической формы пробы, разрезались на кусочки под ледяной водой, из них брались навески в 30 г, которые гомогенизировались при охлаждении в течение 30 сек. с равным объемом ледяной дистиллированной воды. Гомогенат центрифугировали, полученный экстракт фильтровали и исследовали апиразную активность, сохраняя экстракт на холоду.

Проба общим объемом 2 мл содержала 0,98 мл раствора АТФ в виде нейтрализованной Na-соли с исходной концентрацией 2,5 мг бариевой соли АТФ на 1 мл, 0,02 мл 4% CaCl₂, 0,5 мл 0,1 М сукцинатного буфера рН 6,5 и 0,5 мл экстракта, разбавленного обычно в 50 раз водой непосредственно перед опытом. В контроль перед прибавлением энзима добавляли 2 мл 10% трихлоруксусной кислоты и сохраняли на льду в течение времени инкубации проб. Пробы инкубировались 15 мин. при 30°, осаждались 2 мл трихлоруксусной кислоты, фильтровались, в фильтрате определялось отщепление неорганического фосфора по сравнению с контролем в модификации Ломана и Ендрассика. Полученные данные, представляющие среднее из двух определений, показаны в табл. 1.

Таблица 1

Апиразная активность в экстрактах клубней картофеля, выращенного в различных условиях (в γ отщепленного от АТФ фосфора на 1 г сырого веса клубней при стандартных условиях определения)

| Дата взятия образца | Без удобрения | | NPK 60 кг/га, навоз 50 т/га | | | NPK 60 кг/га, навоз 50 т/га | | |
|---------------------------|----------------------------|-------------------------|--------------------------------|-------------------------|---|--------------------------------|-------------------------|---|
| | делянка | апиразная активность | № повтор- ностей | К в виде KCl | К в виде K ₂ SO ₄ | № повтор- ностей | К в виде KCl | К в виде K ₂ SO ₄ |
| | | | | апиразная активность | | | апиразная активность | |
| 2 VIII | № 14 | 5300 | 3 | 8100 | 7550 | — | — | — |
| | 17 лет без удобрения . . . | 5800 | 4 | 7700 | 7250 | — | — | — |
| 9 VIII | № 14 | 6400 | — | — | — | 2 | 7900 | 6850 |
| | 17 лет без удобрения . . . | 6350 | — | — | — | 3 | 7200 | 7500 |
| 10 IX | № 14 | 8200 | 3 | 9000 | 8500 | 2 | 8100 | 8800 |
| | 17 лет без удобрения . . . | 8700 | 4 | 8800 | 7850 | 3 | * | 8700 |

* Соответствующего образца получить не удалось.

Сравнение апиразной активности образцов картофеля, полученных с одних и тех же участков и с одинаковых повторностей, но в разные сроки показывает, что активность апиразы по мере созревания клубней возрастает для всех исследованных случаев. Особенно резко увеличивается активность в клубнях с участков без удобрения.

В созревших клубнях апиразная активность найдена наиболее высокой и примерно одинаковой для всех исследованных образцов с участков с удобрением и без удобрения. В период созревания, напротив, в клубнях с участков без удобрения апиразная активность оказалась значительно меньшей, чем в клубнях с участков с удобрением; наиболее заметно это на пробах самого раннего срока взятия образцов (2 VIII 1950 г.).

Каких-либо закономерных изменений апиразной активности в клубнях в зависимости от содержания крахмала, а также от характера аниона, с которым вводилось калийное удобрение на соответствующих участках в виде сернокислой или хлористой соли, установить не удалось.

Так как средний вес клубней с участков с удобрением значительно превышал таковой с участков без удобрения, то мы определяли в отдельном опыте, как меняется апиразная активность в зависимости от величины клубней. Из одного и того же образца картофеля были одинаковым способом приготовлены экстракты из клубней со средним весом 91 и 38 г, однако различий в апиразной активности мы не обнаружили, т. е. величина клубней не влияла на апиразную активность в экстрактах из них.

Встает также вопрос: не является ли найденное увеличение активности апиразы по мере созревания клубней результатом изменения содержания сухого остатка в клубнях? Хотя прямых определений сухого остатка в клубнях мы не производили, однако сопоставление изменений апиразной активности в клубнях с содержанием в них крахмала, по отношению к которому найдена прямая корреляция с сухим остатком клубней (см., например (3)), показывает, что дело обстоит не так. Наиболее резкое увеличение апиразной активности по мере роста мы находили в клубнях с участков без удобрения, между тем как содержание крахмала в клубнях с делянки № 14 (без удобрения) за это время почти не изменилось: 2 VIII — 15%, 9 VIII — 13,2%, 10 IX — 14,9%*, т. е. значительных изменений сухого остатка не было.

Кроме того, если бы предположение об изменении апиразной активности в зависимости от сухого остатка было правильным, то аналогичные изменения в активности наблюдались бы и по отношению к другим ферментам клубней. Между тем, исследование активности кислой фосфатазы картофеля с субстратом глицерофосфатом натрия, проведенное на тех же самых экстрактах клубней, в которых определялась апиразная активность, показало, что фосфатазная активность никаких закономерных изменений в процессе созревания клубней не обнаруживает, колеблясь

около некоторой средней величины. Для иллюстрации приводим в табл. 2 некоторые данные, полученные А. А. Кобзевой, по фосфатазной активности экстрактов.

Таким образом, отнести увеличение апиразной активности по мере роста клубней за счет изменения сухого остатка нет достаточных оснований.

Мы предполагаем, что изменение активности в процессе роста клубней имеет физиологическое значение. К моменту созревания клубней, по нашим исследованиям, апиразная активность становится наиболее высокой. С другой стороны, по данным Кришнан (2), по мере хранения клубней апиразная активность падает. Таким образом, в период физиологического покоя

Таблица 2

Фосфатазная активность в экстрактах клубней картофеля с участков с удобрением NPK 60 кг/га, навоз 30 т/га (в γ Р на 1 г сырого веса клубней, отщепленного от глицерофосфата натрия при стандартных условиях определения — за 15 мин. при 30°, рН 5,85)

| Дата взятия образца | №№ повторностей | фосфатазная активность | |
|---------------------|-----------------|------------------------|---|
| | | К в виде KCl | К в виде K ₂ SO ₄ |
| 2 VIII | 3 | 585 | 720 |
| | 4 | 656 | 720 |
| 10 IX | 3 | 635 | 664 |
| | 4 | 645 | 669 |

* Определения содержания крахмала производились Е. М. Афанасьевой диастатическим методом.

в клубнях, вследствие увеличения активности апиразы, создаются такие условия, при которых энергия АТФ не может быть использована на протекание реакций, связанных, например, с процессами роста, для которых необходима затрата энергии, но рассеивается в виде теплоты за счет апиразной реакции.

На участках без удобрения, в условиях плохого питания картофельного растения образование фермента апиразы, вероятно, идет более медленно, чем на участках с богатым минеральным и органическим удобрением, однако к моменту созревания клубней апиразная активность везде выравнивается. Мы определяли апиразную активность лишь в водных экстрактах клубней, так как апираза является водорастворимым энзимом; весьма вероятно, что в клубнях регуляция апиразной активности может осуществляться образованием нерастворимых комплексов или же соединением со специфическими ингибиторами; вопрос этот представляет большой интерес и требует экспериментального выяснения.

Таким образом, мы можем предположить, что апираза играет важную роль в поддержании состояния покоя в клубнях. Наши данные на конкретном примере иллюстрируют положение Т. Д. Лысенко о том, что каждая стадия развития растения характеризуется определенным сдвигом обмена веществ, который достигается направленным изменением ферментативных реакций, как это подробно развито в ряде работ А. И. Опарина ⁽⁴⁾ и Н. М. Сисакяна ^(5, 6).

Лаборатория физиологической химии
Академии наук СССР

Поступило
30 III 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Калскаг, Journ. Biol. Chem., 153, 355 (1944). ² Р. Кришнан, Arch. of Biochem., 20, 261, 272 (1949). ³ С. М. Прокошев, Биохимия картофеля, М., 1947. ⁴ А. И. Опарин и В. Н. Зенченко, Проблемы биохимии в мичуринской биологии, сборн. 1, 81, 1949. ⁵ Н. М. Сисакян и А. Кобякова, Биохимия, 5, 225 (1940). ⁶ Н. М. Сисакян и И. И. Филиппович, ДАН, 76, 443 (1951).