

Л. Н. БЕРЕЗНЕГОВСКАЯ

**ЦИАНРЕЗИСТЕНТНОЕ ДЫХАНИЕ И АКТИВНОСТЬ
ФЛАВИНОВЫХ ФЕРМЕНТОВ У РАСТЕНИЙ,
ПОРАЖЕННЫХ ЦВЕТКОВЫМИ ПАРАЗИТАМИ**

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 30 V 1951)

О дыхательных ферментных системах растений, пораженных низшими патогенными организмами, имеется ряд работ (², ³). Химизм дыхания растений, пораженных высшими цветковыми паразитами, известен очень мало.

В предыдущем сообщении мы излагали результаты определения активности полифенолоксидаз некоторых растений, пораженных заразой (*Orobanchе сипана* Wallr.) и повиликой (*Cuscuta еигореа* L.) (¹). В настоящей статье описываются результаты исследования ферментов у тех же объектов.

Как известно, в процессе дыхания растений участвуют различные ферменты, которые делятся на следующие основные группы: 1) оксидазы, содержащие в агоне атом тяжелого металла Fe или Cu (гемин-ферменты, аскорбиноксидаза, полифенолоксидазы и т. п.), и 2) дегидразы, не имеющие в агоне атома тяжелого металла (сложные флавиновые, пиридиновые и т. д.). Первая группа ферментов характеризуется способностью окислять водород путем отнятия электрона от молекулярного кислорода. Вторая группа ферментов является переносчиком водорода от окисляемого субстрата на какой-нибудь акцептор (⁶) или на O₂ с образованием перекиси водорода.

Современные методы биохимии позволяют учитывать дыхание, производимое первой группой ферментов, по изменению в поглощении кислорода в присутствии ингибиторов этих ферментов, например KSCN. Активность ферментов, не содержащих в агоне тяжелого металла, именно флавиновых ферментов, учитывается по возрастанию поглощения кислорода в присутствии субстрата окисления этих ферментов, например α-аминокислот (⁵).

Объектами нашего исследования служили растения, пораженные цветковыми паразитами: подсолнечник сорт Саратовский 169, пораженный заразой расы Б, и крапива (*Urtica dioica* L.), пораженная повиликой.

Поглощение кислорода измерялось манометрически в аппарате типа Варбурга. Свежий материал мы брали с питомника лекарственных растений Томского медицинского института в день опыта. Растения анализировались в фазе цветения. В манометрический сосудик помещались: навеска растертого в кашу материала (около 5 г); 1 мл фосфатного буфера $\frac{1}{15}$ M, рН 7,0; 1 мл 0,1 M раствора гликоколла; 1 мл 0,02 M раствора цианистого калия. В боковой отросток сосудика наливалось 0,2 мл раствора щелочи (30%). В отдельных вариантах опытов, прово-

димых без добавления гликоколла или цианистого калия, эти растворы заменялись соответствующим количеством дважды перегнанной дистиллированной воды. Опыты проводились при 27° и продолжались 40 мин. Отсчеты делались каждые 10 мин. Одновременно с опытом по учету кислорода бралась навеска материала для определения сухого вещества. Расчеты выражались в Q_{O_2} на 100 мг сухого веса.

Результаты в виде средних данных из 3—5 опытов приведены в табл. 1. Как видно из таблицы, поглощение кислорода наблюдалось во всех вариантах опытов.

Таблица 1

Изменение газообмена в тканях больных, здоровых и паразитных растений на фоне добавления KCN и гликоколла (средние данные из 3—5 повторностей)

Объект	Q_{O_2} за 10 мин. на 100 мг сух. вещества				Остаточное дыхание (в % от исходного) на фоне до- бавления		Дыхание за счет метал- лосодержа- щих фермен- тов в %	Изменения в поглощении O_2 от дачи гли- кокола в % от пробы без гликокола	
	конт- роль	глико- колл	KCN	KCN+ +гли- коколл	KCN	KCN+ +гли- коколл		глико- колл	KCN+ +гли- коколл
1. Подсолнечник здоро- вый, лист 10-го яруса	180,1	210,6	122,1	142,3	67,7	68,5	32,3	116,8	116,5
2. Подсолнечник боль- ной, лист 10-го яруса	208,9	227,5	171,2	145,9	81,9	65,2	18,1	108,8	85,2
3. Крапива здоровая, лист 8-го яруса	92,2	149,9	103,7	122,9	—	—	—	162,5	118,5
4. Крапива больная, лист 8-го яруса	85,6	121,4	118,0	120,9	—	—	—	141,8	102,4
5. Повилика, стебли . .	79,5	99,7	152,7	125,5	—	—	—	124,1	82,7
6. Заразиха, стебли . .	170,7	335,2	63,2	125,8	37,0	37,5	63,0	196,3	199,0

Определение остаточного или цианрезистентного дыхания. Опыты ставились в присутствии KCN. Активность цианрезистентного дыхания определялась по разности в показаниях между взвесями без добавления цианидов и на фоне KCN.

Как видно из табл. 1 (опыт 1), у здорового подсолнечника поглощение кислорода несколько снизилось в присутствии цианидов. У подсолнечника, пораженного заразихой, поглощение кислорода в присутствии цианидов снизилось меньше (опыт 2).

В опытах, проведенных с заразихой (опыт 6), паразит имеет остаточное дыхание значительно меньшее, чем растение-хозяин.

В опытах с крапивой поглощение кислорода при добавлении цианидов было более энергичное, чем без них (опыты 3 и 4).

В опытах с повиликой (опыт 5) наблюдалось также усиление поглощения кислорода после добавления KCN. Данные, полученные для крапивы и ее паразита — повилики, не соответствуют общеизвестному положению о том, что цианиды тормозят дыхание, производимое металл-содержащими ферментами, и не дают возможности вычислить для этих растений величину остаточного дыхания. В литературе отмечаются аналогичные данные. В работе (5) проростки ячменя поглотили в одном из опытов 154 μ л кислорода в контрольной пробе. В присутствии цианистого калия поглощение кислорода составило 170 μ л, т. е. на 16 μ л больше. Аналогичные данные имеются и для некоторых других опытов цитируемой работы.

Объяснение приведенным данным следует искать в том, что антиферментное действие цианистых соединений обратимо при некоторых условиях. Известно, что синильная кислота при долгом воздействии на

нее кислорода окисляется в клетках и фермент (катализатор) восстанавливается⁽⁸⁾. Уже давно отмечено также, что при известных комбинированных воздействиях на клетку синильной кислоты и наркотиков происходит не угнетение, но увеличение клеточного дыхания⁽⁷⁾. Вероятно, в наших опытах, а также опытах Д. М. Михлина и П. А. Колесникова, в ряде случаев создавались условия, которые препятствуют блокированию цианистыми соединениями окислительных ферментов, содержащих металл.

Определение активности флавиновых ферментов. Опыты проводились в присутствии гликоколл как специфического субстрата окисления некоторых флавиновых ферментов по методу Михлина и Колесникова⁽⁵⁾. Для чистоты метода серия опытов, кроме того, была поставлена с добавлением гликоколл на фоне KCN. Полученные результаты приведены в табл. 1.

Как видно из приведенных данных, добавление аминокислоты вызвало неодинаковые изменения в поглощении кислорода у разных объектов. В опыте, проведенном со здоровым подсолнечником, добавление гликоколл усилило поглощение кислорода до 116% от исходного (опыт 1). При добавлении гликоколл к тканям больного подсолнечника (опыт 2) поглощение кислорода увеличилось до 108,8% от контроля. В опытах с крапивой (опыт 3) Q_{O_2} здоровых растений при добавлении гликоколл возросло до 162,5% от исходного, а у больных растений — до 141,8%.

Из приведенных данных следует, что ткани пораженных растений медленнее окисляют гликоколл, чем ткани здоровых. Очевидно, что группа флавиновых ферментов у них менее активна, чем у здоровых.

Аналогичные данные, но еще более резко выраженные, получены в опытах с гликоколлом, проведенных на фоне добавления KCN. В опытах с пораженным подсолнечником и крапивой добавление гликоколл практически не вызывало увеличения в поглощении кислорода (опыты 2 и 4). Эти данные еще раз подтверждают, что окисление α -аминокислот, производимое флавиновыми ферментами, задерживается в растениях, пораженных цветковыми паразитами.

В опытах, поставленных с тканями цветковых паразитов, добавление гликоколл вызвало различный эффект: ткани повилики увеличили поглощение кислорода незначительно (опыт 5), ткани заразики усилили дыхание почти вдвое (опыт 6).

Обсуждение полученных данных. На основании изложенных данных можно заключить, что поражение растений цветковыми паразитами влечет перестройку различных окислительных ферментов.

Цианрезистентное дыхание больного подсолнечника заметно повышается. У цветкового паразита — заразики — оно составляет малую величину. Определить остаточное дыхание у других объектов — крапивы и повилики — в условиях опыта не удалось.

Одновременно у пораженных растений отмечается значительное сокращение активности флавиновых ферментов, субстратом окисления которых являются α -аминокислоты. Это позволяет предположить, что в их тканях активируются какие-то ферменты, которые не окисляют гликоколл и не блокируются цианистыми соединениями. Такими могут быть: пиридиннуклеотиды, липооксидазы и др.

У цветкового паразита — заразики — при малой величине остаточного дыхания наблюдается удвоение в поглощении кислорода при добавлении гликоколл. Очевидно, что у этого растения флавиновые ферменты в обычных условиях не проявляют свою активность, возможно, вследствие недостатка субстрата окисления. Это доказывает высокие потенциальные возможности данного паразита активировать свои окислительные системы.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Л. Н. Березнеговская, ДАН, 76, № 6 (1951). ² А. Я. Кокин, Исследования больного растения, 1948. ³ В. Ф. Купревич, Физиология больного растения, 1947. ⁴ Д. М. Михлин, Пероксиды и пероксидазы, 1947. ⁵ Д. М. Михлин и П. А. Колесников, Биохимия, 12, в. 5 (1947). ⁶ В. А. Энгельгардт, Дегидразы, Сборн. Ферменты, изд. АН СССР, 1940. ⁷ О. Warburg, Zs. phys. Chem., 76, 331 (1912). ⁸ Н. Wieland, Handb. d. Biochemie des Menschen und der Tiere, 2, 1925, S. 257.

ПОПРАВКА

В статье Л. Н. Березнеговской „Активность полифенолоксидаз у некоторых растений, пораженных цветковыми паразитами, и у самих паразитов“, напечатанной в ДАН, т. 76, № 6 (1951), замечены следующие опечатки:

Стр.	Строка	Напечатано	Следует читать
859	23	полифенолов	хинонов
862	Табл. 4	Цифры графы 3 относятся к QO ₂ без аскорб. к-ты, а графы 4 — к QO ₂ в присутствии аскорб. к-ты	