

Б. А. РУБИН, Е. В. АРЦИХОВСКАЯ, В. Е. СОКОЛОВА и Т. М. ИВАНОВА
К ВОПРОСУ О РОЛИ ОТДЕЛЬНЫХ ОКСИДАЗ В ДЫХАНИИ ЯБЛОК

(Представлено академиком А. И. Опариным 19 V 1952)

Предыдущими работами нашей лаборатории показано, что в приспособлении обмена веществ растения к условиям среды весьма существенная роль принадлежит ферментным системам организма. В связи с этим, занимаясь вопросом о роли дыхательного газообмена в приспособлении сочных плодов к условиям существования, мы считали необходимым включить в круг исследований изучение особенностей влияния этих условий на деятельность окислительных ферментов. Работа в этом направлении проводилась на яблоках.

Из окислительных ферментов основное внимание было уделено полифенолоксидазе — типичному представителю группы завершающих оксидаз, обладающему в тканях яблока высокой активностью. Активность полифенолоксидазы в срезах мякоти и кожуры определялась манометрическим методом по окислению пирогаллола. Испытывалось влияние различных концентраций кислорода (21, 10, 5 и 1% O₂) на фоне трех температур (10, 20, 30°). Одновременно в тех же условиях определялась интенсивность дыхания плодов. Полученные результаты показали отсутствие закономерной связи между интенсивностью дыхания и активностью полифенолоксидазы (табл. 1).

Таблица 1

Изменения интенсивности дыхания и активности полифенолоксидазы в тканях яблок (сорт Антоновка) во время их роста и хранения

Дата		Ко жу ра				М я ко т ь			
		Ды х а н и е		По ли ф е но л- о к си да за		Ды х а н и е		По ли ф е но л- о к си да за	
		мл O ₂ на 1 г в час	%	мл O ₂ на 1 г в час	%	мл O ₂ на 1 г в час	%	мл O ₂ на 1 г в час	%
9 VII	Плоды на дереве	310	100	536	100	143	100	382	100
25 VII		234	75	460	86	47	33	344	90
23 VIII		192	62	530	99	37	26	272	71
12 IX	Сбор	180	58	484	90	36	25	192	50
21 X	Плоды в хранении	136	44	626	117	26	18	428	112
2 I		96	31	638	119	22	15	344	90

На протяжении всего периода наблюдений интенсивность дыхания как кожуры, так и мякоти постепенно снижается, тогда как изменения активности полифенолоксидазы отличаются совершенно иным характером. Только в мякоти во время пребывания плодов на дереве активность этого фермента падает, однако далеко не столь значительно, как интенсивность дыхания. Если к моменту сбора плодов яблоки дышат в 4 раза слабее, чем в начале наблюдений, то активность полифенолоксидазы

уменьшается за это время всего в 2 раза. В кожуре в период роста плодов активность полифенолоксидазы почти не изменяется. В начале хранения в тканях яблок наблюдается повышение активности полифенолоксидазы, причем значительно более сильное в мякоти: в то время как в кожуре активность этого фермента возрастает по сравнению с активностью, отмеченной для предыдущей пробы, на 29%, в мякоти это превышение достигает 123%. В дальнейшем активность полифенолоксидазы в кожуре продолжает оставаться на том же уровне, тогда как в мякоти она снова несколько снижается.

Таким образом, полученные материалы создают впечатление, что изменения интенсивности дыхания тканей яблок не определяются уровнем активности полифенолоксидазы.

Опыты по влиянию концентрации кислорода на деятельность полифенолоксидазы в тканях яблока показали существование прямой связи между активностью этого фермента и содержанием кислорода в окружающей среде (см. табл. 2).

Таблица 2

Влияние концентрации кислорода на активность полифенолоксидазы тканей яблок (сорт Антоновка) (в $\mu\text{л O}_2$ на 1 г за 1 час)

Дата		Кожура				Мякоть			
		21% O_2	10% O_2	5% O_2	1% O_2	21% O_2	10% O_2	5% O_2	1% O_2
9 VII	Плоды на дереве	1164	558	321	102	878	428	172	48
25 VII		694	532	324	250	614	414	222	128
23 VIII		812	604	502	218	376	318	282	112
22 IX	Сбор	720	630	408	238	386	—	200	64
21 X	Плоды в хранении	1102	782	410	210	766	542	240	160
2 I		1146	724	472	172	594	440	218	132

Однако концентрация кислорода по-разному сказывается на интенсивности дыхания и активности полифенолоксидазы. В одной из работ нашей лаборатории (1) было показано, что оптимальная для дыхания плодов концентрация кислорода не является величиной постоянной. В зависимости от этапа развития плода максимальная интенсивность дыхания может иметь место как при 21% O_2 , так и при 10 и даже при 5%. Между тем, наиболее высокая активность полифенолоксидазы как в кожуре, так и в мякоти всегда отмечается при 21% O_2 .

Еще более четко выявляется отсутствие прямой связи между интенсивностью дыхания и активностью полифенолоксидазы при изучении зависимости этих процессов от уровня температуры (см. табл. 3).

Интенсивность дыхания в кожуре и мякоти при повышении температуры неизменно возрастает, тогда как закономерной связи между температурой и активностью полифенолоксидазы не наблюдается. Такая независимость действия этого фермента от температуры противоречит общеизвестным фактам, касающимся влияния температуры на ферментативные процессы. Последующие опыты показали, что это явление, повидимому, связано с состоянием полифенолоксидазы в живой ткани плода. У яблок, оставленных в хранилище до марта, мякоть приобрела коричневую окраску, размягчилась и фактически перестала дышать. При этом в действии полифенолоксидазы стала обнаруживаться зависимость от температуры, что видно из цифр табл. 4.

Такого рода реагирование на температуру наблюдалось не только при естественном распаде тканей, но и в результате простого растирания мякоти (см. табл. 5).

Таблица 3

Влияние температуры на интенсивность дыхания и активность полифенолоксидазы тканей яблок (сорт Антоновка) (в $\mu\text{л O}_2$ на 1 г за 1 час)

Дата		Кожира						Мякоть					
		Дыхание			Полифенолоксидаза			Дыхание			Полифенолоксидаза		
		10°	20°	30°	10°	20°	30°	10°	20°	30°	10°	20°	30°
9 VII	Плоды на дереве	—	201	418	—	590	481	—	55	231	—	422	340
25 VII		98	210	394	478	456	446	19	42	81	372	350	312
25 VIII		74	196	307	488	516	586	15	41	54	238	298	282
12 IX	Сбор	88	148	303	470	476	506	15	32	62	202	163	210
20 X	Плоды в хранении	71	164	172	648	584	646	13	24	42	406	430	446
2 I		53	121	—	562	678	676	10	24	31	308	366	364

На основании приведенных данных можно предположить, что отсутствие температурной реакции у яблочной полифенолоксидазы является результатом адсорбции этого фермента на клеточных структурах. Появление этой реакции у полифенолоксидазы растертой и отмирающей ткани, очевидно, связано с освобождением фермента благодаря разрушению протоплазменных структур и нарушению адсорбционных связей. Отсутствие прямой зависимости между дыханием и действием полифенолоксидазы выявляется также при изучении дыхательного газообмена отдельных тканей яблок. Дыхание кожиры протекает на значительно более высоком уровне, чем дыхание мякоти. Интенсивность дыхания кожиры в среднем составляет 610% от интенсивности дыхания мякоти. Между тем различия в активности полифенолоксидазы этих тканей значительно менее рельефны — активность этого фермента в кожире в среднем всего на 52% превышает его активность в мякоти.

Таблица 5

Влияние температуры на активность полифенолоксидазы живой и растертой мякоти яблок (сорт Синап) (в $\mu\text{л O}_2$ на 1 г за 1 час)

Вариант	О ₂ %	10°	20°	30°
		Активн. полифенолоксидазы		
Срезы	5	118	122	88
	21	206	224	220
Болтушка	5	390	470	512
	21	410	582	606

что отмеченное выше постепенное падение интенсивности дыхания тканей хранящихся яблок, не совпадающее с ходом изменений актив-

Таблица 4

Активность полифенолоксидазы (в $\mu\text{л O}_2$ на 1 г за 1 час)

Ткань	10°	20°	30°
Кожира	966	1118	1322
Мякоть	146	174	376

Причины такого несоответствия требуют особого внимания, поскольку важная роль полифенолоксидазы как завершающей оксидазы в процессе биологического окисления пользуется всеобщим признанием.

Известно, что дыхательный газообмен катализируется сложным комплексом окислительных ферментов. В частности наши предварительные наблюдения показывают, что в начале октября ткани яблок Антоновка обладают вполне определенной цитохромоксидазной активностью. Но уже через месяц в яблоках этого сорта цитохромоксидаза полностью инактивируется. Вполне возможно,

ности полифенолоксидазы, связано именно с инактивацией цитохром-оксидазы. Характерно, что подавление деятельности этого фермента наблюдается в то время, когда плоды попадают в условия пониженных температур. Данные табл. 6 показывают, что активность цитохром-оксидазы сильно изменяется в зависимости от температуры.

При 10° деятельность цитохромоксидазы полностью подавляется, тогда как при 30° ее активность выражается вполне ощутимой величи-

ной. Можно думать, что дыхание плода при 10° обеспечивается, главным образом, деятельностью полифенолоксидазы. Повышение же интенсивности дыхания тканей с повышением температуры может быть связано с возрастанием доли участия цитохромоксидазы в дыхательном газообмене.

Энергично реагируя на температуру, цитохромоксидаза яблоч при определении ее активности *in vivo* не от-

зывается на понижение концентрации кислорода. Возможно, что в тех случаях, когда оптимальными для дыхания являются пониженные концентрации кислорода, дыхательный газообмен в значительной мере обеспечивается деятельностью цитохромоксидазы. Однако повышение интенсивности дыхания при недостаточном снабжении кислородом не может быть целиком отнесено за счет этого фермента, активность которого в таких условиях сохраняется на прежнем уровне. Повышение интенсивности дыхания в этом случае, повидимому, связано с деятельностью ферментов остаточного дыхания, интенсивность которых увеличивается именно при пониженном содержании кислорода (2).

Различной степенью участия в дыхании ферментов флавопротеиновой группы объясняются, вероятно, и различия в интенсивности дыхания мякоти и кожуры. Как уже указывалось, более высокий уровень дыхания кожуры не оправдывается соотношением активности полифенолоксидазы в кожуре и мякоти. Что касается цитохромоксидазы, то ее активность в кожуре ниже, чем в мякоти. Между тем, дыхание кожуры в среднем на 70% обеспечивается ферментами остаточного дыхания, тогда как доля участия этих ферментов в дыхании мякоти растущих яблоч составляет всего 12,5%. В мякоти хранящихся плодов действие ферментов остаточного дыхания вообще не обнаруживается.

Полученные нами данные позволяют считать, что приспособление процессов дыхания яблоч к изменяющимся условиям существования достигается путем совместного действия целой группы оксидаз, отличающихся друг от друга различным характером зависимости от условий внешней среды.

Институт биохимии
Академии наук СССР

Поступило
25 IV 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Б. А. Рубин, В. Е. Соколова, Е. В. Арциховская, ДАН, 85, № 4 (1952).
2. Б. А. Рубин, Е. В. Арциховская, Т. М. Иванова, Биохимия плодов и овощей, сборн. 2, 1951, стр. 21.