

Б. А. РУБИН и Е. Г. ГУДАЛИНА

ДЕГИДРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ТКАНЕЙ ЯБЛОК В ХОДЕ РАЗВИТИЯ ПЛОДОВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 3 IX 1953)

Вопрос о природе физиологических заболеваний, возникающих в тканях яблок, изучен до настоящего времени недостаточно. Согласно взглядам, развиваемым в ряде работ (1-3), возникновению физиологических заболеваний плодов способствует накопление ацетальдегида в их тканях. Достигнув определенной концентрации, ацетальдегид вызывает отравление клеток и нарушает тем самым нормальный ход процессов дыхательного газообмена. В свою очередь нарушение нормального дыхания служит причиной дальнейшего возрастания интенсивности накопления ацетальдегида.

Установлено, что ацетальдегид накапливается тканями яблок в период жизни плода, который характеризуется снижением уровня дыхательной активности. Поскольку активность полифенолоксидазы — важнейшего для тканей яблок окислительного фермента — в течение жизни плода изменяется мало (4), естественно было предположить, что накопление ацетальдегида обусловлено нарушением деятельности ферментов дегидразного комплекса.

В литературе имеются обширные материалы, касающиеся действия дегидраз в тканях высших растений (5). Общей для всех проведенных исследований особенностью является то, что они ограничиваются установлением самого факта наличия дегидразной активности, а также характеристикой специфичности отношения отдельных дегидраз к субстрату. Почти совершенно не изучен вопрос об изменении деятельности ферментов дегидразного комплекса в ходе развития растительного организма. Это положение характерно также и для дегидраз, содержащихся в тканях сочных плодов.

Изучая особенности обмена веществ в тканях яблок, мы поставили себе задачей включить в эти исследования наблюдения над активностью дегидраз у этих объектов в течение всего периода созревания и хранения плодов. Выполнение этой задачи было связано прежде всего с необходимостью разработать методику определения дегидраз в тканях яблок. Эйлер и Штефенбург (6) обнаружили в растертой мякоти яблок лишь очень низкую активность дегидраз и высказали предположение, что здесь присутствует или появляется при растирании фактор, угнетающий действие ферментов. Согласно Тунбергу, дегидразы не обнаруживаются в тканях, содержащих дубильные вещества.

В связи с этими указаниями нами были предприняты попытки удалить имеющиеся в тканях яблок дубильные вещества либо предотвратить их окисление при растирании. Для этой цели применялось осаждение дубильных веществ пептоном, разрезание и растирание ткани под раствором KCN, предварительная инфильтрация KCN в ткань и т. п. Однако ни

одна из этих мер не привела к желаемым результатам, и все попытки определить дегидразы в растертой ткани яблок неизменно оставались бесплодными.

Исходя из предположения, что разрушение клеток при растирании влечет за собой инактивирование дегидраз, мы перешли к определению действия дегидраз не в вытяжках из растертой ткани, а непосредственно в живой ткани яблок. Для определения дегидраз применялись тонкие срезы мякоти яблок. Первые же опыты показали, что срезы способны обесцвечивать метиленовую синь в анаэробных условиях. Вследствие сохранения структуры живой ткани вещества, угнетающие действия фермента, если они находятся в одном с ним растворе, могут не вступать с ним в непосредственное взаимодействие, если фермент остается включенным в живую клетку. В то же время срезы ткани обладают большой суммарной поверхностью, что обеспечивает свободное взаимодействие фермента с краской.

Прежде всего было необходимо выяснить ряд вопросов, в частности, зависимость действия дегидраз от реакции среды, температуры, скорость восстановления дегидразами метиленовой сини различной концентрации и др.

Все опыты проводились с 3 повторностями, контролем служила ткань, убитая кипячением. Данные, полученные при изучении зависимости действия дегидраз от реакции среды, представлены в табл. 1.

Опыты, проведенные с тремя сортами яблок, показали, что при увеличении рН активность дегидраз возрастает. Из табл. 1 видно, что при рН ниже 7 дегидразную активность обнаружить не удастся. При очень высоком значении рН 10,5 наблюдается неферментативное восстановление метиленовой сини: контрольные пробы в этих условиях обесцвечиваются быстрее опытных. Оптимум действия дегидраз тканей яблок лежит в области рН 8,0—9,0, что согласуется с литературными указаниями. Ввиду того, что активность дегидраз в значительной степени зависит от реакции среды, необходимо тщательно следить, чтобы в течение всего опыта рН оставался равным 8.

Таблица 1

Активность дегидраз при различных рН (время обесцвечивания в мин.)

рН	Сорт		
	Синап	Грушовка	Антоновка
6,5	Не обесцвечивается		
8,0	10,5	16	12
9,2	2	6	5
10,5	—	3	2

Таблица 2

Зависимость действия дегидраз от температуры (время обесцвечивания в мин.)

Т-ра в°	Сорт	
	Грушовка	Антоновка
15	—	38
25	13,8	8,8
37	5,5	3,67
43	Срезы ткани гибнут	

Были поставлены опыты по выяснению оптимальной для деятельности дегидраз температуры. Результаты приводятся в табл. 2.

При повышении температуры до 37° активность дегидраз возрастает; при переходе за 40° наблюдается гибель ткани. Все дальнейшие опыты проводились нами при 37°.

Изучение скорости восстановления метиленовой сини срезами ткани яблок показало, что она тем выше, чем меньше концентрация краски (см. табл. 3).

При очень большом разведении (1 : 100 000) метиленовая синь восстанавливается даже на воздухе. После встряхивания раствора вновь появляется голубая окраска, которая при стоянии опять исчезает. Все наши

дальнейшие опыты проводились с использованием метиленовой сини в концентрации 1 : 20 000.

Таким образом, проведенные нами методические опыты подтверждают ферментативный характер восстановления метиленовой сини живой тканью мякоти яблок.

Используя полученные в этих опытах результаты, мы провели затем наблюдения над активностью дегидраз в живых тканях яблок в период созревания и хранения плодов. Для работы были выбраны два сорта яблок: Грушовка (ранний сорт) и Антоновка (поздний сорт). Изучаемые сорта яблок сильно отличаются по продолжительности периода их созревания и хранения. Результаты определений представлены на рис. 1.

Из рисунка видно, что активность дегидраз в мякоти яблок не остается постоянной, а снижается по мере созревания и старения плодов. На протяжении всего периода наблюдений активность дегидраз в мякоти Грушовки ниже, чем в мякоти Антоновки. Это подтверждает представления о том, что дыхательный газообмен в тканях поздних сортов осуществляется на более высоком уровне, чем в ранних (7).

В ткани раннего сорта Грушовки, где процессы созревания и старения идут быстрее, чем в ткани позднего, активность дегидраз очень быстро падает. В особенности резкое снижение дегидразного действия наблюдается в период 23 IX — 14 X. Как правило, яблоки этого сорта сохраняются только до середины сентября. У яблок, оставленных на хранение после этого срока, очень скоро появляются признаки серьезных физиологических нарушений — покоричневение мякоти, накопление значительных количеств ацетальдегида (см. рис. 1).

У Антоновки снижение активности дегидраз происходит значительно медленнее. Однако и у этого сорта дегидразы также перестают обнаруживаться, когда появляются признаки физиологического заболевания.

Таким образом, направление изменения активности дегидразных систем одинаково у обоих сортов и совпадает с общим направлением изменения дыхательной активности мякоти. Так как активность важнейшего для яблок окислительного фермента — полифеноксидазы — изменяется в этот период мало, то можно предполагать, что снижение уровня дыхания при созревании яблок обусловлено уменьшением активности дегидраз. Это снижение дегидразной активности наблюдается на фоне непрерывного накопления в мякоти яблок ацетальдегида.

В динамике накопления ацетальдегида мякотью яблок наблюдается картина, обратная изменению активности дегидраз (см. рис. 1). Накопление ацетальдегида в мякоти Грушовки идет значительно интенсивнее, чем в мякоти Антоновки, и к началу октября достигает, по видимому, предела, за которым наступает отравление ткани. Как уже указывалось, этот момент совпадает с полной инактивацией дегидраз. У Антоновки признаки физиологических заболеваний обнаруживаются при более высо-

Таблица 3

Скорость восстановления метиленовой сини (в мин.)

Конц.	Сорт		
	Синап	Грушовка	Антоновка
1 : 20 000	9	14	16
1 : 40 000	4	9	5
1 : 100 000	2	5	3

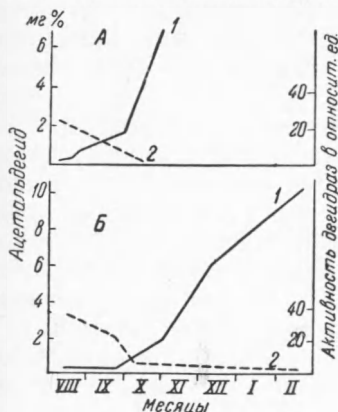


Рис. 1. Активность дегидраз и накопление ацетальдегида в мякоти яблок. А—Грушовка, Б—Антоновка. 1—содержание ацетальдегида, 2—активность дегидраз

кой концентрации ацетальдегида, что может быть связано с более высоким уровнем дегидразной активности у этого сорта.

Таким образом, полученные нами данные показывают, что физиологические заболевания яблок не могут быть связаны с одним только накоплением ацетальдегида. Причина этих заболеваний кроется, очевидно, в обусловливаемом накоплением ацетальдегида нарушении нормальной деятельности дыхательных ферментов. Детальное изучение этого вопроса и является задачей наших дальнейших исследований.

Поступило
22 V 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ F. V. Power, V. K. Chesnut, J. Am. Chem. Soc., **42**, 1509 (1920).
² C. P. Harvey, D. F. Fisher, J. Agric. Res., **35**, 983 (1927). ³ E. V. Miller, *ibid.*, **53**, 49 (1936). ⁴ Е. В. Арциховская, В. Е. Соколова, ДАН, **84**, 765 (1952). ⁵ Н. С. Гельман, Усп. совр. биол., **29**, 183 (1950). ⁶ Н. Euler, F. Steffenburg, Zs. physiol. Chem., **28**, 39 (1928). ⁷ Б. А. Рубин, Биохимические основы хранения овощей, 1945.