

УДК 581.1.036:577.15

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

И. Г. СУЛЕЙМАНОВ, Л. Х. РАМАЗАНОВА, В. Я. АЛЕКСЕЕВА

ОБ ИЗОФЕРМЕНТАХ ПЕРОКСИДАЗЫ ЛИСТЬЕВ ОЗИМОЙ РЖИ

(Представлено академиком М. Х. Чайлаханом 3 V 1971)

В настоящее время считается доказанным существование множественных молекулярных форм пероксидазы — изоферментов. Предполагается, что они имеют большое биологическое значение при неблагоприятных воздействиях окружающей среды (¹). Исследования в этой области показали, что изменение физиологического состояния растений по-разному отражается на количестве изоферментов пероксидазы (²⁻⁴).

Представляется интересным изучение изоферментного состава пероксидазы озимых растений и оксидазной функции пероксидазы в связи с известным фактом разрушения ею ауксинов и прекращением роста озимых в зимнее время (^{5, 6}). Настоящая статья посвящена сравнительному исследованию пероксидазной и оксидазной активности растворимых белков, выделенных из цитоплазмы листьев озимой ржи сорта Казанская в зимнее и весеннее время. Опыт полевой. Белки выделялись методом фракционного высаливания сульфатом аммония (20; 40; 70% насыщения от полного, соответственно белковые фракции 0,2; 0,4; 0,7), очищались диализом, лиофилизировались и хранились в эксикаторе на холоду. Пероксидазная активность определялась с использованием в качестве субстратов бензидина (⁷), *n*-анизидина (⁸), пирогаллола, гваякола (⁹), аскорбиновой кислоты (¹⁰), оксидазная активность пероксидазы — с флороглюцином в присутствии 10^{-4} М $MnCl_2$ (¹¹) в реакционной смеси в качестве активатора. Электрофоретическое разделение белков проводилось на полиакриламидном геле в условиях, описанных в (¹²). В каждую трубочку с гелем вносили выравненное по Лоури (¹³) количество белка. Для выявления изоферментов пероксидазы использовали реакции с бензидином, *n*-анизидином, пирогаллолом и гваяколом. Общее число белковых компонентов обнаруживалось с помощью красителя кумасси голубого. После инкубации в реакционной смеси в течение 30 мин. гель фотографировали и зарисовывали. Все исследования проводили в трис-HCl буфере pH 7,6.

Рассмотрим наиболее активные фракции 0,4 и 0,7. Ввиду того, что слабо выраженные компоненты оказались неотраженными на фотографиях, мы сочли возможным привести диаграммы (рис. 1). При сравнении анодных изоферментных спектров по фракциям можно видеть, что они различаются набором изомов. В зависимости от времени года изменяется относительная интенсивность окраски полос постоянно присутствующих изоферментов (соответствующих друг другу по подвижности): весной проявляют активность компоненты, безразличные по отношению к тому же субстрату в зимнее время года и наоборот. Иными словами изоферменты пероксидазы озимой ржи различаются по субстратной специфичности, причем последняя зависит от времени года.

У фракции 0,4 при более высокой концентрации белка весной (зимой 60, 73%, весной 97, 96%) удельная активность по бензидину, аскорбиновой кислоте, *n*-анизидину и гваяколу была выше зимой. Увеличение пероксидазной активности по отношению к пирогаллолу весной можно объяснить, по-видимому, разнокачественностью изоферментов во фракциях.

Таблица 1

Пероксидазная и флороглүцинооксидазная активность белков озимой ржи

Фракции белков	Время года	Пероксидазная активность по субстратам					Флороглүцинооксидазная активность цл О ₂ за 45 мин. при конц. белка		
		бензидин, сек ⁻¹	п-анизидин	пирогал- лол	гваякол	аскорб. кислота, мг/мг белка	0,12 мг/мл	0,24 мг/мл	0,48 мг/мл
0,4	Зима	7,74	0,688	19,434	1,586	4,034	40,3		
	Весна	3,61	0,168	22,107	1,126	1,879	0		
0,7	Зима	43,25	12,771	85,231	51,934	24,79	124,9	134,8	154,6
	Весна	3,21	0,442	15,753	4,057	3,27	44,3	58,4	62,1

Пероксидазная активность 0,7 фракций изменяется более резко, хотя содержание белка колеблется незначительно (зимой 96,92%, весной 98,40%). Число активных полос в весеннее время по отношению к пирогаллолу и бензидину увеличивается на один компонент, по *n*-анизидину на 3, а по гваяколу на 2 изоэзма больше в зимнее время. Изменения же активности по всем субстратам однозначны: весной активность падает. По-видимому, во всех случаях более важную роль играет все же не количество изоэзм, а их качество. Различная степень изменения пероксидазной активности по субстратам — это, вероятно, также проявление разнокачественности изоферментов в белковых фракциях.

Изменения катодных компонентов в зависимости от времени года выражены слабо.

Окисление флороглүцина зимой активировалось, и, поскольку трудно предполагать множественность активных центров оксидазной функции фермента, не подлежит сомнению важная роль пероксидазы в аэробном дыхании озимых культур при низких температурах, а в связи с участием ее в окислении ауксинов — в замедлении ростовых процессов.

У фракции 0,4 весной флороглүцинооксидазная активность не была обнаружена при достаточно высокой пероксидазной активности по многим субстратам. Поскольку с увеличением концентрации белка в реакционной смеси эффективность использования каждой единицы белка падает (¹⁴), пересчет флороглүцинооксидазной активности на 1 мг белка не производился.

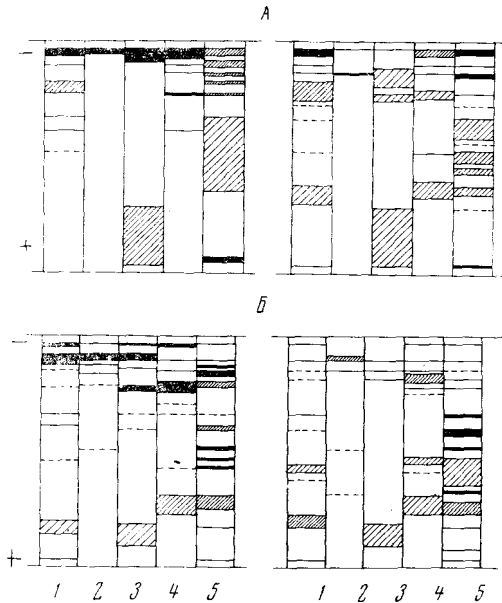


Рис. 1. Диаграммы электрофоретического разделения белковых фракций: А — фракции 0,4, Б — фракции 0,7. а — зимние, б — весенние; субстраты: 1 — пирогаллол, 2 — гваякол, 3 — *n*-анизидин, 4 — бензидин, 5 — кумасси

Возрастание оксидазной функции пероксидазы зимой, как и изменение субстратной специфичности и набора изозимов, является, по-видимому, приспособительным свойством растений к условиям низких температур.

Казанский государственный университет
им. В. И. Ульянова-Ленина

Поступило
28 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. А. Рубин, Л. Н. Логина, Усп. совр. биол., 65, в. 3, 442 (1968). ² В. Н. McCown, R. C. McLeester et al., Cryobiology, 5, 6, 410 (1969). ³ D. W. Roberts, Canad. J. Bot., 47, 2, 263 (1969). ⁴ An. Novacky, R. E. Hampton, Phytopathology, 58, 3, 301 (1968). ⁵ B. Z. Siegel, A. W. Galston, Science, 157, 3796, 1557 (1967). ⁶ И. И. Туманов, Физиол. раст., 14, в. 3 (1967). ⁷ А. Н. Бояркин, Биохимия, 16, в. 4 (1951). ⁸ D. W. De Jong, A. C. Olson et al., Plant Physiol., 43, 841 (1968). ⁹ J. J. Evans, N. A. Alldridge, Phytochemistry, 4, 499 (1965). ¹⁰ Д. М. Михлин, З. С. Броновицкая, Биохимия, 14, в. 4 (1949). ¹¹ Т. М. Иванова, Б. А. Рубин, Биохимия, 27, в. 4, 622 (1962). ¹² В. И. Сафонов, М. И. Сафанова, Физиол. раст., 16, в. 2, 350 (1969). ¹³ V. H. Potty, Anal. Biochem., 29, 3, 535 (1969). ¹⁴ Т. М. Иванова, Б. А. Рубин, М. А. Давыдова, ДАН, 190, № 1, 214 (1970).