

БИОХИМИЯ

М. Г. ГАСПАРЯН, А. А. АВЕТИСЯН

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
ВЕЩЕСТВ НА ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ В ПРОРОСШИХ
СЕМЕНАХ КЮРУШНЫ

Ростовые вещества, вырабатываемые в клетках растений, крайне необходимы для нормальной деятельности растительного организма [5].

Кафедра ботаники Ереванского зооветеринарного института с 1949 года изучает вопросы влияния некоторых физиологически активных веществ на повышение урожайности кормовых трав [1, 2]. Имеется достаточно большое число работ, посвященных изучению действия физиологически активных веществ на коллоидно-химические свойства протоплазмы [7, 10, 12, 13, 15], а также на биохимические процессы, протекающие в растительном организме [3, 8, 9, 13, 16, 17].

Целью данной работы являлось сравнительное изучение действия калиевой соли гетероауксина, альфа-нафтилуксусной и 2—4 дихлорфеноксимасляной кислот на динамику активности ряда ферментов при предпосевной обработке семян кюрушны водными растворами этих препаратов.

Методика работы. По 100 штук семян кюрушны в течение 24 часов обрабатывались в водных растворах калиевой соли гетероауксина, (к. соль. Г. А.), а также альфа-нафтил-уксусной (альфа-НУК) и 2—4 дихлорфеноксимасляной (2—4 ДМ) кислот. Концентрация растворов — 0,005%. Затем набухшие семена переносились для проращивания в чашки Петри на фильтровальную бумагу, которая в процессе проращивания семян смачивалась водопроводной водой. В контрольном варианте опыта в течение такого же срока семена обрабатывались водопроводной водой.

В проросших семенах как обработанных растворами вышеуказанных препаратов, так и не обработанных на второй, четвертый и шестой день проращивания была определена активность: а) каталазы, б) пероксидазы, в) полифенолоксидазы, г) липазы, д) протеазы и е) амилазы.

Определение активности ферментов в проросших семенах кюрушны производилось:

1) каталаза — по методу Баха и Зубковой [11];

2) пероксидаза и полифенолоксидаза — иодометрически по методу Д. М. Михлина и З. С. Бронуницкой [4];

3) липаза — путем установления в мл 0,1N щелочи, использованной на титрование жирных кислот, образовавшихся под влиянием липазы из 1 г семян;

4) протеаза — определением нарастания количества карбоксильных групп в водно-спиртовых растворах [4,6];

5) амилаза — путем определения количества мальтозы по методу Бертрана.

Во время изучения активности ферментов проросшие семена хранились в темном месте при температуре 22–25°C. Определение ферментов в проросших семенах производилось в 10 отдельных пробах. Во всех пробах проросших семян направленность действия ферментов под влиянием обработки была одинаковой.

Схема опыта. Варианты: — I — контроль, II — альфа-НУК, III — К. соль Г. А., IV—2—4 ДМ.

Изменение активности каталазы в проросших семенах кюрушны на 2, 4 и 6 день прорастания отражено в табл. 1.

Таблица 1

Динамика активности каталазы
(выражена в см³ 0,1 N KMnO₄ на 1 г навески)

Варианты опыта	2 день	4 день	6 день
I Контроль	70,0	36	44
II Альфа-НУК . . .	70,0	54	52
III К. соль Г. А. . .	66,0	42	60
IV 2—4 ДМ	78,0	56	26

На второй день прорастания семян в IV варианте наблюдается повышение активности каталазы, а в III имеется некоторое ее подавление. На 4 день активность во всех вариантах снижается, но, по сравнению с контролем, во всех опытных пробах она повышена. На шестой день прорастания активность этого фермента в III варианте повышается, а в IV резко падает.

Характер изменения активности пероксидазы приведен в табл. 2.

Таблица 2

Динамика активности пероксидазы
(выражена в см³ 0,01 N У на 1 г навески)

Варианты опыта	2 день	4 день	6 день
I Контроль	23,6	36,0	14,0
II Альфа-НУК . . .	24,8	32,0	14,0
III К. соль Г. А. . .	38,4	44,0	14,0
IV 2—4 ДМ	30,8	24,0	14,0

На второй день прорастания во всех вариантах опыта, по сравнению с контролем, активность повышается; особенно это хорошо

сказалось в III варианте. На четвертый день наибольшая активность отмечается также в III варианте, а на шестой день во всех вариантах активность сильно падает. Полученные нами данные о положительном влиянии альфа-НУК и к. соли ГА на активность окислительных ферментов совпадает с результатами опытов других авторов [9].

В проросших семенах кюрушны наименее активной оказалась полифенолоксидаза (табл. 3).

Таблица 3

Динамика активности полифенолоксидазы
(выражена в см³ 0,01 N У на 1 г навески)

Варианты опыта	2 день	4 день	6 день
I Контроль . . .	0,4	6,8	9,2
II Альфа-НУК . .	нет	1,0	4,0
III К. соль ГА . .	нет	2,8	4,4
IV 2—4 ДМ . . .	нет	2,4	4,4

Отсутствие этого фермента в начале прорастания семян пшеницы отмечено в литературе [14]. Ее активность проявляется только на 4 день прорастания семян и усиливается на 6 день. Обработка семян всеми испытуемыми препаратами как на 4, так и на 6 день их прорастания снижает активность полифенолоксидазы примерно в 2 раза.

Предпосевная обработка семян водными растворами калиевой соли гетероауксина, альфа-нафтилуксусной и 2—4 дихлорфеноксимасляной кислот повышает активность каталазы и пероксидазы и угнетает деятельность полифенолоксидазы.

В табл. 4 приводятся данные, характеризующие динамику активности липазы.

Таблица 4

Динамика активности липазы
(выражена в см³ 0,2 N NaOH на 1 г навески)

Варианты опыта	2 день	4 день	6 день
I Контроль . . .	0,60	—0,40	—0,60
II Альфа-НУК . .	1,20	3,06	0,60
III К. соль ГА . .	2,70	2,15	0,30
IV 2—4 ДМ . . .	0,60	1,68	0,70

Все испытуемые нами вещества значительно усилили активность липазы. Уже на второй день прорастания семян под влиянием к. соли ГА активность липазы повысилась примерно в 4 раза, а под влиянием альфа НУК — в 2 раза. В то же время 2—4 ДМ не оказала никакого действия.

Через 2 дня в семенах контрольного варианта активность липазы резко снизилась, а в опытных вариантах (кроме III), наоборот, —повы-

силась. На 6 день прорастания семян во всех вариантах опыта деятельность липазы ослабла, хотя в обработанных семенах она была относительно выше, чем в контроле, где активность была, наоборот, подавлена. Полученные нами результаты совпадают с данными Г. Х. Молотковского и Н. В. Волотовой [9].

Гораздо слабее проявляется положительное действие физиологически активных веществ на деятельность протеазы (табл. 5). Под влиянием применяемых нами препаратов в начале прорастания семян

Таблица 5

Динамика активности протеазы
(выражена в см³ 0.1 N NaOH на 1 г навески)

Варианты опыта	2 день	4 день	6 день
I Контроль . . .	1,50	2,13	1,50
II Альфа-НУК . . .	1,70	1,25	1,40
III К. соль Г. А. . .	1,78	1,50	0,90
IV 2—4 ДМ . . .	1,75	1,65	1,15

происходит незначительное усиление активности этого фермента, однако, начиная с 4 дня и дальше, в семенах, обработанных вышеуказанными веществами, активность падает и особенно сильно под влиянием калиевой соли гетероауксина. Можно предполагать, что у кюрушны, как бобового растения, преобладает синтез белковых веществ и предпосевная обработка его семян гетероауксином усиливает не гидролитическую, а синтетическую деятельность протеазы. Это тем более вероятно, что рост проростков семян этого варианта опыта шел интенсивнее, чем в контроле.

Весьма своеобразно проявляется действие предпосевной обработки семян на активность амилазы (табл. 6).

Таблица 6

Динамика активности амилазы
(выражена в мг мальтозы на 100 мг навески)

Варианты опыта	2 день	4 день	6 день
I Контроль . . .	-1,20	2,88	1,92
II Альфа-НУК . . .	-0,48	-6,00	-2,40
III К. соль Г. А. . .	нет	7,20	1,20
IV 2—4 ДМ . . .	2,4	2,40	3,60

Альфа-нафтилуксусная кислота сильно тормозит гидролитическое действие амилазы, 2—4 дихлорфеноксималяная кислота ее усиливает, а калиевая соль гетероауксина в начале прорастания не оказывает, никакого действия. На четвертый день прорастания в семенах контроля и особенно в семенах III варианта опыта активность амилазы резко усиливается, а в семенах II варианта также резко ослабевает.

На 6 день активность этого фермента в III варианте резко падает, в IV варианте продолжает усиливаться.

Исходя из результатов биохимических анализов, можно прийти к следующим предварительным выводам:

1. Предпосевная обработка семян кюрушны водными растворами альфа-нафтилуксусной кислоты, калиевой соли гетероауксина 2—4 дихлорфеноксимасляной кислоты в концентрации 0,005% приводит к усилению биохимических процессов и к повышению активности каталазы, пероксидазы, липазы и амилазы. Растворы этих же веществ угнетают деятельность полифенолоксидазы, а раствор алфа-нафтилуксусной кислоты — и активность амилазы.

2 Из испытуемых веществ наиболее активной в смысле повышения в проросших семенах деятельности ферментов является калиевая соль гетероауксина.

3. Вышеуказанные вещества особенно повышают активность фермента липазы.

Кафедра биохимии и ботаники
Ереванского зооветеринарного института

Поступило 18 VIII 1956 г.

Մ. Գ. ԳԱՊԱՐՅԱՆ, Ա. Ա. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ

ՄԻ ՔԱՆԻ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎ ՆՅՈՒԹԻՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՔՈՒՐՈՒՇՆԱՅԻ ԵՂԱԾ ՍԵՐՄԵՐՈՒՄ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ
ԿԵՆՍԱԳՈՐԾՈՒՆԵՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մեր նպատակն է եղել ուսումնասիրել հետերոաուքսինի կալիական աղի, ալֆա-նապթիլ ալֆա-նապթիլի քաղցալաթթվի և 2—4 դիքլորֆենոքսի ճարպաթթվի ազդեցությունը մի շարք ֆերմենտների՝ կատալազայի պերօքսիդազայի, պոլիֆենոլօքսիդազայի, լիպազայի, պրօտեազայի և ամիլազայի կենսագործունեության գինամիկայի վրա:

Ֆերմենտներն ուսումնասիրվել են քուրուշնայի ծլած սերմերում, որոնք մշակված են եղել ալֆա նյութերի 0,005 %-ային ջրային լուծույթներով, ծլման 2-րդ, 4-րդ և 6-րդ օրերում:

Հիմնվելով բիոքիմիական անալիզների արդյունքների վրա կարելի է հանդիլ հետևյալ նախնական եզրակացությունը՝

1. Քուրուշնայի սերմերի նախադանքային մշակումը ալֆա-նապթիլի քաղցալաթթվի, հետերոաուքսինի կալիական աղի և 2—4 դիքլորֆենոքսի ճարպաթթվի 0,005 %-ային ջրային լուծույթներով, օժեղացնում է կատալազային պերօքսիդազայի, լիպազայի և ամիլազայի ակտիվությունը: Նույն նյութերի լուծույթները կասեցնում են պոլիֆենոլօքսիդազայի, իսկ ալֆա-նապթիլի քաղցալաթթվի լուծույթը՝ նաև ամիլազայի կենսագործունեությունը:

2. Ծլած սերմերում ֆերմենտների կենսագործունեության բարձրացման աեսակետից՝ ուսումնասիրված տարբեր նյութերից ամենաակտիվը հետերոաուքսինի կալիական աղն է:

3. Վերը հիշված նյութերն առանձնապես օժեղացնում են լիպազա ֆերմենտի ակտիվությունը:

ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисян А. А., К вопросу о влиянии ростовых веществ на урожайность и семенную продуктивность армянского эспартега. Труды Ереванского зооветеринарного института, выпуск XI, 1949.
2. Аветисян А. А. и Гулянян В. М., Влияние альфа-нафтилуксусной кислоты на рост и развитие кюрушны при предпосевной обработке семян. Известия АН АрмССР (биолог. и сельхоз. науки), т. VII, 11, 1954.
3. Данилова Т. А., Влияние обработки семян гетероауксином на урожай и течение биохимических процессов у сахарной свеклы. ДАН СССР т. 72, 4 ст. 801—804, 1950.
4. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Смирнова-Икковичева М. М., Мури Н. К., Методы биохимического исследования растений. Сельхозгиз. М.-Л., 1952.
5. Зединг Г., Ростовые вещества растений, 1955.
6. Иванов Н. Н., Методы физиологии и биохимии растений, 1946.
7. Максимов Н. А., О механизме действия ростовых веществ на растительные клетки. Бюлл. Моск. об-ва исп. природы, отд. биол. 51 (2) стр. 5—10, 1946.
8. Миримян В. А., Физиологическое действие альфа-нафтил-уксусной кислоты на лимонное растение. ДАН СССР, т. 66, 4, стр. 737—740, 1949.
9. Молотковский Г. Х. и Волотовская Н. И., Активирование липазы некоторыми стимуляторами роста. ДАН СССР, т. 70, 1, стр. 117—120, 1950.
10. Можяева Л. В., Действие гетероауксина на коллоидно-химические свойства протоплазмы клеток лука. ДАН СССР, т. 59, 6, стр. 1187—1191, 1948.
11. Предтеченский В. Е., Боровская В. М., Марголина Л. Т., Лабораторные методы исследования, 1950.
12. Ракитин Ю. В., Проблема стимуляции растений в связи с задачами сельского хозяйства, Успехи сов. биолог. т. 36, вып 3/6, стр. 284—315, 1953.
13. Сатарова Н. А., Влияние химических стимуляторов на изменение коллоидно-химических свойств протоплазмы и активность пероксидазы в клубнях картофеля. ДАН СССР, т. 93, 6, стр. 1119—1122, 1953.
14. Сисакян Н. И. и Филипович И. И., О характере изменения активности ферментов дыхания в процессе развития растений. ДАН СССР, т. 76, 3, стр. 443—446, 1951.
15. Холодный Н. Г., Фитогормоны и их применение в сельском хозяйстве. Наука и жизнь т. 8, стр. 5—9, 1947.
16. Шаталова—Залеская Е. О., Влияние R-индолилуксусной кислоты на активность ферментов и дыхание проростков. Труды НИИ биологии Хар. ГУ им. А. М. Горького, т. 17, стр. 113—122, 1953.
17. Якушкина И. П., Физиологические и биохимические изменения, происходящие в растении под влиянием обработки ростовыми веществами. ДАН СССР, т. 61, 5, стр. 939—942, 1948.