

УДК 576.343

БИОХИМИЯ

Н. П. КОРАБЛЕВА, Э. П. ЛАДЫЖЕНСКАЯ, Э. В. МОРОЗОВА, Л. В. МЕТЛИЦКИЙ

ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ РОСТА ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ И ГИББЕРЕЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В МЕРИСТЕМАХ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

(Представлено академиком А. И. Опариным 14 XII 1970)

Результаты изучения особенностей нуклеинового обмена в тканях покоящихся органов позволяют предположить, что в глубоком покое ингибиторы репрессируют определенный участок генома, подавляя образование специфической РНК, необходимой для начала прорастания (¹⁻³). Нами ранее была установлена связь между ростом, ингибирующей активностью регуляторов роста фенольной природы, представленными в клубнях картофеля кофейной кислотой и скополетином, и способностью меристематических тканей точек роста этих же клубней к синтезу нуклеиновых кислот (²⁻⁴).

В настоящей работе испытывали действие кофейной кислоты искополетина, как выделенных из клубней картофеля, так и коммерческих препаратов этих же веществ, а также гибберелловой кислоты (ГК) на биосинтез нуклеиновых кислот в меристемах клубней, находящихся в различном физиологическом состоянии.

Точки роста, изолированные из клубней картофеля в покое и при прорастании, инкубировали с аденином-С¹⁴ 2 часа в присутствии того или иного ингибитора в условиях, исключающих микробное заражение. Суммарный препарат РНК выделяли фенольно-детергентным методом по прописям, описанным ранее, и хроматографировали на колонке МАК (⁵). Эндогенные ингибиторы извлекали из тканей клубней подкисленным диэтиловым эфиром и разделяли с помощью хроматографии на бумаге в системе *n*-бутанол — уксусная кислота — вода 40:12:28 (⁶). Испытывали также действие фенольных ингибиторов роста на биосинтез нуклеиновых кислот после обработки целых клубней и высечек точек роста ГК. Опыт проводили с клубнями картофеля сорта Приекульский.

На профилях элюции с колонки МАК (рис. 1 А, Б) первой идет фракция сРНК (I), затем фракция, содержащая ДНК и комплекс ДНК — РНК (II). Относительно этой фракции показано, что комплекс ДНК—РНК является гибридом матрицы ДНК с синтезируемой на ней мРНК (⁶). Затем идут фракции легкой и тяжелой рРНК (III и IV) и, наконец, фракция высокомолекулярной мРНК (V). Последняя фракция была определена как мРНК в основном работами Шнигельмана и сотрудников для *E. coli* (⁷). Аналогичная фракция обнаружена Черри в прорастающих семенах пяти видов растений (⁸).

Во время глубокого покоя в меристематических тканях клубней мРНК не обнаруживается (рис. 1 А). Однако наблюдается незначительное включение аденина-С¹⁴ во фракцию сРНК, несколько большее — в ДНК + ДНК — РНК и во фракцию рРНК. Фракции легкой и тяжелой рРНК разделяются не полностью, как на у.-ф. профиле, так и на кривой радиоактивности. Выход из состояния покоя сопровождается не только усилением синтеза всех фракций нуклеиновых кислот, но и появлением фракции мРНК (рис. 1 Б), образование которой было подавлено в меристемах покоящегося органа.

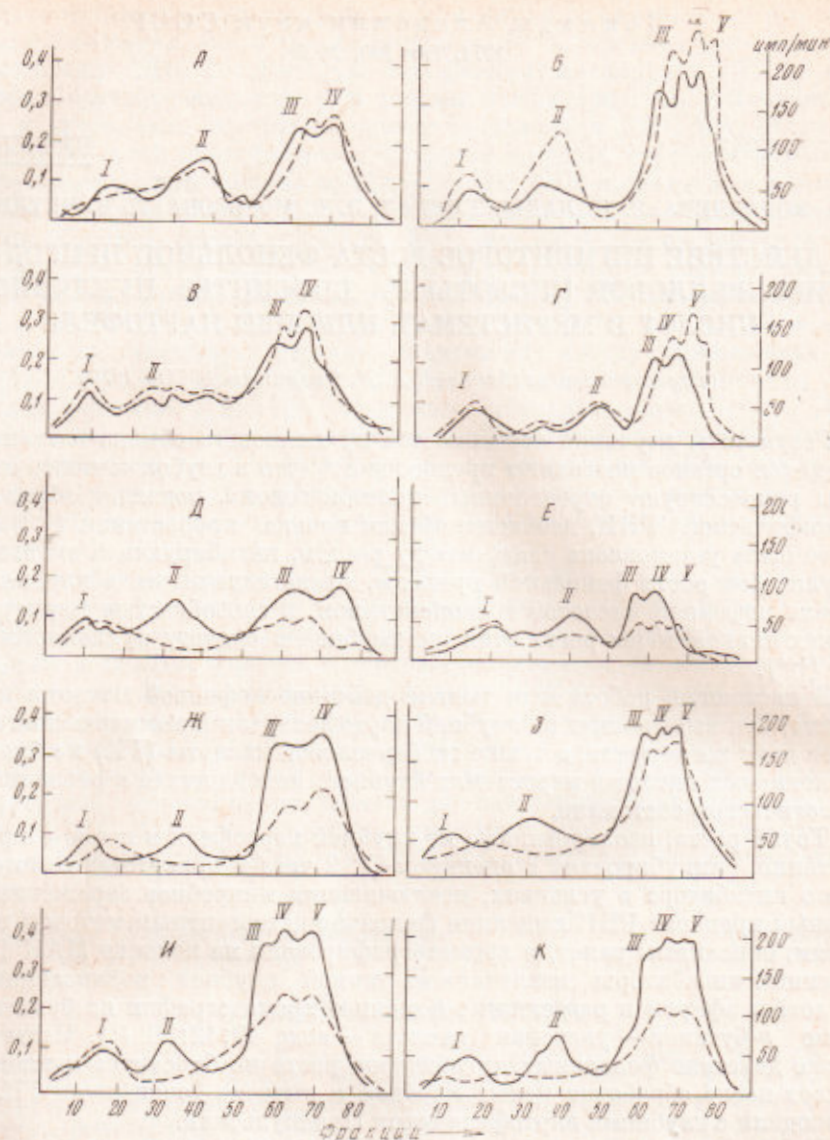


Рис. 1. Разделение на колонке МАК препаратов нуклеиновых кислот из меристем клубней картофеля. А — покоящиеся клубни, контроль; Б — прорастающие клубни, контроль; В — высечки точек роста из покоящихся клубней инкубировались с ГК (10^{-7} M); Г — покоящиеся клубни обрабатывались ГК (10^{-3} M) и прорастивались; Д — высечки точек роста из покоящихся клубней инкубировались с ГК (10^{-7} M) и с кофейной кислотой и скополетинном, выделенными из этих же клубней; Е — покоящиеся клубни обрабатывались так же, как в Г, высечки точек роста из них инкубировались с кофейной кислотой и скополетинном, выделенными из необработанных, покоящихся клубней; Ж — высечки точек роста из прорастающих клубней инкубировались с кофейной кислотой и скополетинном, выделенными из покоящихся клубней; З — высечки точек роста из прорастающих клубней инкубировались со скополетинном (10^{-3} M); И — высечки точек роста из прорастающих клубней инкубировались с кофейной кислотой (10^{-3} M), К — высечки точек роста из прорастающих клубней инкубировались в смеси кофейной кислоты (10^{-3} M) и скополетина (10^{-3} M)

Серия опытов, проведенных в период покоя, показала, что при инкубации высечек точек роста с ГК усиливается включение меченого предшественника во фракции сРНК и рРНК и понижается в ДНК + ДНК — РНК (рис. 1 В). В случае, когда ГК обрабатывались целые клубни картофеля (намачивание 30 мин. в растворе ГК и выдерживание в темноте во влажной атмосфере при +20° до появления ростков длиной 1—2 мм), синтез сРНК и рРНК мало отличался от контроля, а синтез ДНК + ДНК — РНК был также слегка подавлен (рис. 1 Г); фракции легкой и тяжелой рРНК разделялись более четко, чем в контроле; появлялось плечо или пик мРНК.

Инкубация высечек точек роста, обработанных ГК, с кофейной кислотой и скополетином, выделенными из покоящихся клубней (биологическая концентрация 1,5 г/мл), приводит к резкому снижению включения меченого предшественника во все фракции нуклеиновых кислот (рис. 1 Д). А фракция мРНК, появляющаяся в меристемах под действием ГК, вновь исчезает после обработки эндогенными ингибиторами (рис. 1 Е).

Кофейная кислота и скополетин, полученные из клубней, не влияют на включение меченого предшественника в нуклеиновые кислоты покоящихся клубней, но сильно подавляют синтез всех фракций нуклеиновых кислот в точках роста клубней, вышедших из состояния покоя (рис. 1 Ж). Особенно сильно подавляется включение меченого предшественника во фракции ДНК + ДНК — РНК и мРНК.

Опыты с коммерческими препаратами кофейной кислоты и скополетина позволили более четко выявить значение каждого вещества в регуляции синтеза различных фракций нуклеиновых кислот. По сравнению с контролем (рис. 1 Б) скополетин заметно подавлял включение аденина-С¹⁴ в сРНК и ДНК + ДНК — РНК и незначительно снижал синтез рРНК и мРНК (рис. 1 З). Кофейная кислота не действовала на синтез сРНК, но подавляла образование ДНК + ДНК — РНК и особенно сильно уменьшала включение предшественника во фракции рРНК и мРНК (рис. 1 И). При совместном действии кофейной кислоты и скополетина наблюдали сильное подавление синтеза всех фракций нуклеиновых кислот и полное исчезновение мРНК (рис. 1 К).

Судя по результатам первых опытов, проведенных с ингибитором роста терпеноидной природы — абсцизовой кислотой (³), она также подавляет синтез нуклеиновых кислот в точках роста клубней. Понижение включения аденина-С¹⁴ во фракции ДНК + ДНК — РНК и рРНК отмечено при применении абсцизовой кислоты в концентрации 10⁻⁶—10⁻³ М.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ингибиторы фенольной природы могут принимать участие в регуляции нуклеинового обмена в покое и при прорастании растений. Избирательное ингибирование различными фенольными соединениями разных фракций нуклеиновых кислот позволяет предполагать существование в растениях целой системы ингибиторов и стимуляторов роста, активность компонентов которой определяет физиологическое состояние органа.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
11 XII 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ D. Y. H. Tuan, J. Bonner, *Plant Physiol.*, **39**, 768 (1964). ² Н. П. Кораблева, К. Баишев, Л. В. Метлицкий, *ДАН*, **191**, № 1 (1970). ³ Л. А. Незгорова, Н. Н. Борисова, *Физиол. раст.*, **17**, 2, 322 (1970). ⁴ Л. В. Метлицкий, Н. П. Кораблева и др., *Сборн. Биохимия иммунитета и покоя растений*, **3**, «Наука», 1969. ⁵ Н. П. Кораблева, К. Баишев и др., *Прикл. биохим. и микробиол.*, **6**, № 5, 532 (1970). ⁶ J. H. Cherry, *Science*, **146**, 1066 (1964). ⁷ S. Spigelman, M. Hayashi, *Symp. of Quant. Biology, Cold Spring Harbor Labor. of Quant. Biology*, **28** (1963). ⁸ J. H. Cherry, H. Chroboczek, W. Y. Carpenter, *Plant Physiol.*, **40**, 3 (1965). ⁹ В. И. Кефели, Ч. Ш. Кадыров и др., *Физиол. раст.*, **17**, 5, 1047 (1970).