

В. И. БАБЕНКО

**О ВКЛЮЧЕНИИ ЭКЗОГЕННОЙ САХАРОЗЫ В ОБМЕН
СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ У ОЗИМЫХ ЗЛАКОВ
ПРИ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 25 IX 1970)

Цель исследования заключалась в определении содержания свободных аминокислот в надземных органах озимых злаков в связи с введением через их корневую систему растворов Кнопа с добавлением сахарозы.

Для опыта были взяты озимая пшеница Одесская 3 и озимая рожь Одесская 1, семена которых проращивали на протяжении 15 дней до образования растений с двумя листьями. Далее опытные растения помещали на различные субстраты, представляющие собой варианты раствора Кнопа с добавлением в некоторые из них 10% сахарозы. В опыте с озимой пшеницей были использованы следующие субстраты: 1) NPK, 2) NPK + 10% сахароза, 3) PK + 3N, 4) PK + 3N + 10% сахароза, 5) NK + 3P, 6) NK + 3P + 10% сахароза; в опыте с озимой рожью: 1) H₂O, 2) H₂O + 10% сахароза, 3) NPK, 4) NPK + 10% сахароза, 5) PK + 3N, 6) PK + 3N + 10% сахароза. Растения озимой пшеницы выдерживали на различных субстратах при 1 ÷ 3° в темноте в течение 21 дня, растения озимой ржи — при 2 ÷ 4° в темноте на протяжении 15 дней. Ежедневно проводили смену субстратов. Определение содержания свободных аминокислот в надземных органах опытных растений проводили методом количественной хроматографии на бумаге (1). Растворителем служила смесь *n*-бутанол — уксусная кислота — вода (4 : 1 : 2).

Таблица 1

Содержание свободных аминокислот в надземных органах растений озимой пшеницы Одесская 3 при выращивании на различных субстратах, мг на 1 г абсолютно сухого вещества

Аминокислоты	До начала опыта	NPK	NPK + 10% сахароза	PK + 3N	PK + 3N + 10% сахароза	NK + 3P	NK + 3P + 10% сахароза
Аспарагин	3,22	6,15	5,54	6,45	6,25	6,28	5,81
Глутамин	0,89	1,14	2,89	1,19	2,81	1,07	3,12
Серин	0,95	0,72	0,98	0,78	0,97	0,65	1,05
Глицин	0,33	0,22	0	0	0	0	0
Лизин, гистидин, аргинин	0,72	0,78	0,84	0,75	0,88	0,81	0,83
Глутаминовая кислота	1,50	1,28	1,53	1,14	1,65	1,00	1,52
Треонин	0,44	0,30	0,32	0,26	0,31	0,28	0,32
Аланин	1,10	1,04	1,65	1,22	1,60	1,02	1,54
Пролин	0	0,71	3,60	0,81	3,86	0,76	3,91
Тирозин	0,26	0,21	0,21	0,20	0,20	0,18	0,18
Триптофан	0,15	0	0	0	0	0	0
Валин	0,88	0,97	1,05	0,91	0,99	0,89	1,00
Фенилаланин	0,20	0,25	0,22	0,21	0,20	0,27	0,27
Лейцин	0,45	0,48	0,46	0,44	0,42	0,44	0,50
Аминомасляная кислота	1,50	0,66	0,84	0,65	0,96	0,71	0,89
Сумма аминокислот	12,59	14,91	20,13	15,01	21,10	14,36	20,94

Проведенные нами исследования показали (табл. 1), что выращивание растений озимой пшеницы Одесская 16 в условиях пониженных температур на минеральных субстратах с добавлением сахарозы приводило к заметному обогащению тканей их надземных органов свободными аминокислотами. Так, добавление сахарозы к раствору Кюппа в варианте NPK обуславливало увеличение количества свободных аминокислот у опытных растений в среднем на $\frac{1}{3}$ по сравнению с контрольным вариантом, растения которого выращивались без добавления сахарозы. В случае использования в качестве субстратов для выращивания растворов Кюппа с утроенной дозой N или P, к которым была добавлена сахароза, накопление свободных аминокислот у опытных растений пшеницы характеризовалось несколько большими величинами.

Увеличение содержания свободных аминокислот при выращивании в условиях пониженных температур на минеральных субстратах с добавлением сахарозы было отмечено также в надземных органах растений озимой ржи Одесская 1 (табл. 2). Выдерживание опытных растений на субстратах NPK + 10% сахароза и PK + 3N + 10% сахароза при $2 \div 4^\circ$ обуславливало в среднем на $\frac{1}{2}$ по сравнению с контролем (те же субстраты, но без добавления сахарозы) более энергичное накопление аминокислот. Добавление 10% сахарозы к водному субстрату (без минеральных солей) способствовало увеличению суммы аминокислот у опытных растений лишь в среднем на 16%.

Выяснилось, что у растений озимой ржи, наряду с надземными органами, экзогенная сахароза включалась также в обмен свободных аминокислот корней. Правда, в корнях этот процесс проходил менее интенсивно. Так, выращивание озимой ржи при пониженных температурах на растворе Кюппа с добавлением сахарозы обуславливало увеличение общей суммы свободных аминокислот в корнях лишь в среднем на 16%, на том же растворе с утроенной дозой N и сахарозой — на 7%. Добавление сахарозы к водному субстрату увеличивало содержание аминокислот в среднем на 6%. Можно предположить, что большая часть сахарозы, проникшей в корни, передвигалась в надземные органы растений. Вопрос о локализации процесса аминирования кетокислот, образовавшихся из экзогенной сахарозы, остается открытым и требует дальнейших исследований.

Таблица 2

Содержание свободных аминокислот в надземных органах растений озимой ржи Одесская 1 при выращивании на различных субстратах, мг на 1 г абсолютно сухого вещества

Аминокислоты	До начала опыта	H ₂ O	H ₂ O + 10% сахароза	NPK	NPK + 10% сахароза	PK + 3N	PK + 3N + 10% сахароза
Аспарагин	2,64	2,46	2,43	4,15	3,82	4,00	4,00
Глютамин	0,75	0,61	0,70	0,89	2,19	0,99	2,35
Аспарагиновая кислота	0	0	0	0,19	0	0,19	0
Серия	1,12	0,73	0,76	0,86	1,22	0,84	1,20
Глицин	0,24	0,21	0,19	0,19	Сл.	0,22	Сл.
Лизин, гистидин, аргинин	0,80	0,67	0,65	0,89	1,14	1,00	1,22
Глютаминовая кислота	1,14	1,22	1,24	1,00	1,44	1,00	1,47
Треонин	0,38	0,29	0,29	0,38	0,34	0,35	0,30
Аланин	1,24	1,04	1,25	1,55	1,69	1,35	1,56
Пролин	Сл.	0	0,78	0,53	2,59	0,48	1,73
Тирозин	0,17	0	0	0,20	0,18	0,17	0,23
Триптофан	0,13	0,14	0,25	0	0,22	0	0,18
Валин	0,64	0,61	0,66	0,84	0,96	0,91	1,00
Фенилаланин	0,21	0,17	0,20	0,24	0,21	0,21	0,21
Лейцин	0,38	0,36	0,39	0,47	0,39	0,51	0,40
Аминомасляная кислота	1,00	0,64	0,82	0,73	0,92	0,82	0,92
Сумма аминокислот	10,84	9,15	10,61	13,11	17,31	13,04	16,77

Данные о накоплении заметных количеств свободных аминокислот, в особенности пролина, у некоторых видов растений при введении экзогенной сахарозы (методом вакуум-инfiltrации) получены также другими исследователями (2). Имеются, кроме того, сведения о непосредственном использовании сахаров в процессе биосинтеза белковых веществ (3).

Непосредственная роль экзогенной сахарозы в биосинтезе свободных аминокислот у озимых злаков, вероятно всего, сводилась к образованию кетокислот, которые в дальнейшем подвергались прямому аминированию. Можно думать, что именно пониженные температуры, которые поддерживались в нашем опыте, в силу значительного подавления ростовых и других физиологических процессов способствовали пониженному расходованию сахаров и, в результате неполного их окисления в акте дыхания, накоплению значительных количеств кетокислот, акцептирующих аммиак. Таким образом, экзогенная сахароза, которая образовывалась в процессе неполного окисления кетокислоты, выступала в роли эффективного источника углерода для биосинтеза свободных аминокислот.

Источником азота для синтеза свободных аминокислот служили минеральные субстраты в виде растворов Кнопа. Об этом свидетельствует тот факт, что накопление заметных количеств аминокислот было обнаружено у озимых злаков лишь в том случае, если субстрат в качестве своей составной части содержал N. Растения озимой ржи, которые выращивались при пониженных температурах на водной среде, лишенной минеральных солей, в том числе азотистых, несмотря на добавление сахарозы, содержали сравнительно незначительное количество аминокислот. Источником азота в этом случае могли быть лишь конечные продукты ферментативного гидролиза свободных аминокислот и белков или аминные группы, образывавшиеся в результате реакций переаминирования аминокислот.

Увеличение суммы свободных аминокислот у озимых злаков, которые выращивались на минеральных субстратах с добавлением сахарозы, обуславливалось усилением биосинтеза преимущественно таких аминокислот, как пролин, глутамин, глутаминовая кислота, аланин, аминокислоты глицина и серин. Наиболее значительно увеличивалось содержание пролина и глутамина. Так, в надземных органах озимой пшеницы, которая получала экзогенную сахарозу, количество пролина было в среднем в 5, а глутамина — в 2,5 раза более высоким по сравнению с озимой пшеницей, которая выращивалась на субстратах без сахарозы. Удельный вес пролина в общей сумме аминокислот и амидов увеличивался при этом с 4,7—5,4 до 17,8—18,7%, глутамина — с 7,4—7,9 до 13,3—14,9%.

В надземных органах озимой ржи увеличение пролина и глутамина характеризовалось несколько меньшими величинами, что можно, по-видимому, объяснить менее продолжительным по сравнению с озимой пшеницей выращиванием растений озимой ржи на субстратах, включающих сахарозу. Добавление сахарозы к водному субстрату не оказывало влияния на содержание глутамина, удельный вес которого у растений озимой ржи оставался прежним (в среднем 6,6%). В то же время в этих же условиях было отмечено образование небольшого количества пролина, удельный вес которого составлял в среднем 7%.

В корнях озимой ржи, которая выращивалась на различных субстратах, содержание пролина и глутамина было также неодинаковым. Так, в варианте NPK удельный вес глутамина составлял 6,4%, в том же варианте, но с добавлением сахарозы 12%, в варианте PK + 3N 6,9%, а в варианте PK + 3N + сахароза 14%. В случае выращивания озимой ржи на водном субстрате удельный вес глутамина в корнях составлял в среднем 6%, независимо от добавления сахарозы. При выращивании растений озимой ржи на минеральных субстратах, лишенных сахарозы, пролин, как правило, в корнях отсутствовал. В варианте NPK + сахароза удельный вес этой аминокислоты составлял 6%, а в варианте PK + 3N + сахароза 4%.

Пролин не был обнаружен в корнях растений озимой ржи, которые выдерживались на водном субстрате, в том числе с добавлением сахарозы.

Следует указать на специфичность поведения аспарагина. Оказалось, что в случае добавления к минеральным субстратам сахарозы в надземных органах и корнях озимых злаков проявлялась тенденция к уменьшению количества этого амида. Значение этого процесса остается пока не вполне ясным. Можно предположить, что содержание аспарагина у опытных растений уменьшалось в результате взаимодействия аспарагиновой и α -кетоглютаровой кислот, в ходе которого синтезировалась глутаминовая кислота и далее глутамин.

Таким образом, синтез и накопление амида глутамина и иминокислоты пролина является одним из первичных звеньев включения экзогенной сахарозы в метаболизм азотистых веществ у озимых злаков при пониженных температурах. Непосредственно первичным продуктом прямого аминирования производных экзогенной сахарозы — кетокислот, является глутаминовая кислота, из которой в дальнейшем образуется пролин. Образование этих метаболитов имеет значение пути, тесно связывающего между собой обмен углеводов и обмен свободных аминокислот.

Полученные в наших экспериментах данные проливают свет на физиологическую роль некоторых метаболитов в процессе яровизации озимых злаков. Становится понятным значение сахарного субстрата для яровизации (⁴, ⁵) зародышей семян озимых злаков, отделенных от эндоспермов. То же можно сказать и об установленном факте яровизации вегетирующих растений озимых злаков в темноте на холоду с использованием сахарных субстратов (⁶, ⁷). В обоих случаях экзогенная сахароза, включаясь в разнообразные обменные процессы, выступает в роли ряда исходных веществ, необходимых для осуществления цепи биохимических превращений у озимых злаков при пониженных температурах.

Всесоюзный селекционно-генетический институт
Одесса

Поступило
22 IX 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Т. С. Пасхина, В кн. Современ. методы в биохимии, 1, 1964.
² J. F. Thompson, C. R. Stewart, C. J. Morris, *Plant Physiol.*, 41, 1578 (1966).
³ R. G. S. Bidwell, R. A. Barr, F. C. Steward, *Nature*, 203, 367 (1964).
⁴ F. Gregori, O. Purvis, *Nature*, 138, № 8 (1936). ⁵ И. Н. Коновалов, ДАН, 16, № 7 (1937). ⁶ Я. Крекуле, В сборн. Морфогенез раст., 2, М., 1961. ⁷ В. И. Бабенко, А. Г. Инкина, *Физиол. раст.*, 17, № 3 (1970).