

В. А. АВАКЯН

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗДОРОВОГО И
ВЫРОЖДЕННОГО КАРТОФЕЛЯ

Влияние неблагоприятных факторов внешней среды приводит к систематическому нарушению питания клубней, в результате чего нарушается нормальный обмен веществ растений. Изменение типа обмена веществ, нарушая физиологическую слаженность процессов, протекающих в организме, приводит к вырождению.

Методы изучения вырождения картофеля должны основываться на выявлении тех процессов, которые, нарушая нормальный ход обмена веществ, приводят к вырождению. Химический состав клубней под влиянием условий питания претерпевает гораздо больше изменений, чем состав семян. Уже имеется много работ, освещающих вопрос о характерных биохимических отличиях клубней картофеля, полученных от здоровых и больных растений.

Исследованиями Е. Ф. Топеха [8] было установлено, что вырождение сопровождается нарушением азотного метаболизма. Было показано, что содержание общего азота, рассчитанного на сухой вес, в больных клубнях на 17—43% выше, чем у здоровых. Это увеличение идет исключительно за счет увеличения белкового азота.

По данным М. Н. Воробьевой [3], клубни растений, пораженные морщинистой мозаикой, содержали повышенное количество и аммиачного азота.

Б. И. Бернштейн и др. [1] сообщают, что клубни от растений, больных готикой, характеризуются пониженным содержанием крахмала, значительным увеличением содержания аммиачного азота.

Работами Л. В. Рожалина [5] установлено, что нарушение питания клубней, повторяясь в ряде поколений, вызывает соответственное изменение в составе белка (возрастает содержание азота, что в свою очередь приводит к нарушению нормального типа обмена веществ).

Нами были изучены некоторые биохимические изменения, возникающие в клубнях картофеля при вырождении. С этой целью проведены химические анализы клубней урожая 1959 и 1960 гг. на содержание сухого вещества, крахмала и растворимой фракции белка. Белок определялся весовым, крахмал—поляриметрическим методом по Эверсу. Кроме того, электрофорезом на бумаге определено количество растворимой фракции белка и количество свободных аминокислот в клубнях. Объектом для анализа служили клубни сорта Лорх, происходящие от здоровых растений, клубни растений того же сорта, зараженных одной из следующих болезней вырождения: морщинистая мозаика, полосчатая

мозаика, крапчатость, скручивание листьев и клубни растений, полученных из клубней с нитевидными ростками.

Клубни вырожденных и здоровых растений значительно отличались между собой как по количеству сухого вещества, так и по содержанию крахмала и растворимой фракции белка (табл. 1).

Таблица 1
Изменение химического состава клубней при вырождении.
Сорт Лорх — многолетняя весенняя посадка 1959 г.

Состояние растений	Содержание в %			Количество белка на 100 частей крахмала
	сухого вещества	крахмала	белка в сое клубней	
Здоровые	19,68	13,12	0,66	5,03
" с вирусом X	20,12	13,21	0,67	5,07
" без вируса X	18,73	12,91	0,63	4,88
Морщинистая мозаика	18,66	12,41	0,70	5,65
" с вирусом X	18,45	12,11	0,75	6,20
Полосчатая мозаика	17,18	11,30	0,64	5,67
" с вирусом X	14,46	11,19	0,74	6,62
Крапчатость с вирусом X	18,56	12,08	0,74	6,13
Скручивание листьев с вирусом X	16,55	9,63	0,61	6,34
Нитевидность ростков с виру- сом X	16,92	10,28	0,70	6,81

Клубни от вырожденных растений содержат сухого вещества на 1,02—5,62% меньше, чем клубни здоровых растений. С наименьшим содержанием сухого вещества оказался образец картофеля, пораженный полосчатой мозаикой с положительной реакцией на вирус X—14,46%, тогда как у клубней от внешне здоровых растений с вирусом X составило 18,73%.

Наблюдается также понижение содержания крахмала в клубнях вырожденных растений по сравнению со здоровыми. Содержание крахмала в клубнях от вырожденных растений значительно меньше (9,63—12,41%), по сравнению со здоровыми (12,91—13,21).

Содержание растворимой фракции белка в клубнях от вырожденных растений несколько больше по сравнению с клубнями здоровых растений.

Увеличение содержания растворимой фракции белка в клубнях картофеля при вырождении происходит как абсолютно, так и относительно. Для определения относительного увеличения количества растворимой фракции белка вычислено количество белка на 100 частей крахмала. У клубней вырожденных растений количество белка на 100 частей крахмала на 12,3—34,3% больше, чем у клубней от здоровых растений. У клубней от растений с нитевидностью ростков, скручиванием листьев и полосчатой мозаикой, зараженных вирусом X—больше на 26,2—34,9%.

Клубни от растений с положительной реакцией на вирус X имеют тенденцию к увеличению процента белка как абсолютно, так и относительно.

При анализе клубней урожая 1960 г. получены также аналогичные данные. В клубнях урожая 1960 года содержание сухого вещества и крахмала гораздо больше, чем в образцах предыдущего года. По-видимому, это объясняется сравнительно высоким урожаем картофеля в 1959 г. по сравнению с урожаем 1960 г.

Результаты анализов 1960 г. показали, что у клубней вырожденных растений также наблюдается снижение процента сухого вещества и крахмала и повышенное содержание растворимой фракции белка (табл. 2).

Таблица 2

Изменение химического состава клубней при вырождении.
Весенняя посадка, 1960 г.

Состояние растений	Содержание в %			Количество белка на 100 частей крахмала
	сухого вещества	крахмала	белка в соке клубней	
Здоровые	26,63	19,23	0,68	3,54
Здоровые с вирусом X	27,16	20,21	0,82	4,06
Полосчатая мозаика	23,48	16,15	1,05	6,51
Морщинистая мозаика	23,90	17,42	0,96	5,51
Нитевидность ростков	21,35	15,01	1,07	7,13

У клубней от вырожденных растений содержание сухого вещества на 2,73—5,28% и крахмала на 4,06—4,22% больше, чем у клубней от здоровых растений.

Клубни от вырожденных растений содержат несколько больше растворимой фракции белка (0,96—1,07%), по сравнению со здоровыми (0,68—0,82%). Следует отметить, что увеличение содержания белка у клубней от вырожденных растений в урожае 1960 г. более существенно, чем у клубней урожая 1959 г.

Количество растворимой фракции белка (белок в соке) на 100 частей крахмала у клубней вырожденных растений на 41,3—73,1% больше, чем у клубней от здоровых растений.

Необходимо отметить, что с наименьшим содержанием сухого вещества и крахмала и с наибольшим содержанием растворимой фракции белка выделялись клубни растений, полученных из клубней с нитевидными ростками. Характерно, что указанные клубни как в 1959, так и в 1960 г. имели наибольшее количество белка на 100 частей крахмала (6,81—7,13).

Нами проведены также химические анализы клубней от растений разной репродукции (табл. 3). Клубни вариантов трехгодичной летней репродукции и одногодичной весенней посадки после двухгодичной летней репродукции имеют практически одинаковое содержание сухого вещества, крахмала и белка.

У клубней многолетней весенней посадки содержание сухого ве-

Т а б л и ц а 3

Химический состав клубней картофеля разных репродукций.
Весенняя посадка, 1960 г.

Семенной материал	Содержание в %			Количество белка на 100 частей крахмала
	сухого вещества	крахмала	белка в соке клубней	
Трехгодичной летней репродукции	25,82	19,36	0,80	4,13
Двухгодичной летней репродукции + год весенней посадки . . .	26,71	19,90	0,87	4,37
Многолетней весенней репродукции	24,23	17,21	0,91	5,29

щества на 1,54% и крахмала на 2,15% меньше, чем у клубней летней репродукции. У первых наблюдается увеличение содержания растворимой фракции белка как абсолютно, так и относительно.

В клубнях варианта многолетней весенней репродукции количество белка на 100 частей крахмала больше на 26,8%, чем в клубнях варианта летней репродукции, и на 15,59%, чем у варианта одногодичной весенней репродукции после двухгодичной летней посадки.

Результаты химического анализа свидетельствуют о том, что при вырождении происходит изменение соотношения между азотистыми и углеводными веществами в сторону относительного увеличения азотистых веществ.

В клубнях картофеля, полученных от вырожденных и здоровых растений, проводилось выделение растворимой фракции белка при помощи электрофореза на бумаге. Нами применялась методика, разработанная Л. В. Рожалиным [6]. Сок из клубней центрифугировался в течение 5 мин. при скорости вращения 2000 оборотов в минуту и наносился на бумажные ленты для электрофореза в количестве 0,040 мл в два приема. Линия нанесения сока (старт) была расположена на анодной половине ленты, на расстоянии 8 см от ее середины. Электрофорез производился на фосфатной буферной смеси рН 4,94 в течение 1 ч. 30 м. при напряжении 500—1000 вольт и силе тока 30 миллиампер. После электрофореза ленты окрашивались краской, приготовленной следующим образом: 50 мл этилового спирта смешивались с 30 мл воды и в этой смеси растворялись 3,5 г сулемы и 0,1 г бром фенолового синего. После обработки краской ленты обмывались в 0,5% уксусной кислоте, при этом белок окрашивается в синий цвет.

В примененном нами способе движение белка по ленте при электрофорезе происходит в направлении от анода к катоду. Наиболее подвижная, растворимая фракция белка находится у катодной части.

Как видно из приведенных электрофоретических лент, наибольшее количество наиболее растворимой фракции белка наблюдается в соке клубней от вырожденных растений (рис. 1). Полученные ленты расшифрованы на денситометре. По вычерченным кривым можно судить о ко-

личестве наиболее растворимой фракции белка в соке клубней здоровых и вырожденных растений (рис. 2). У катодной части (справа) находится наиболее растворимая фракция белка.

Процентное содержание каждой фракции в расшифрованной электрофореграмме пропорционально площади, ограниченной соответствующим пиком записанной кривой и перпендикулярами, опущенными из концов пика на нулевую линию кривой.

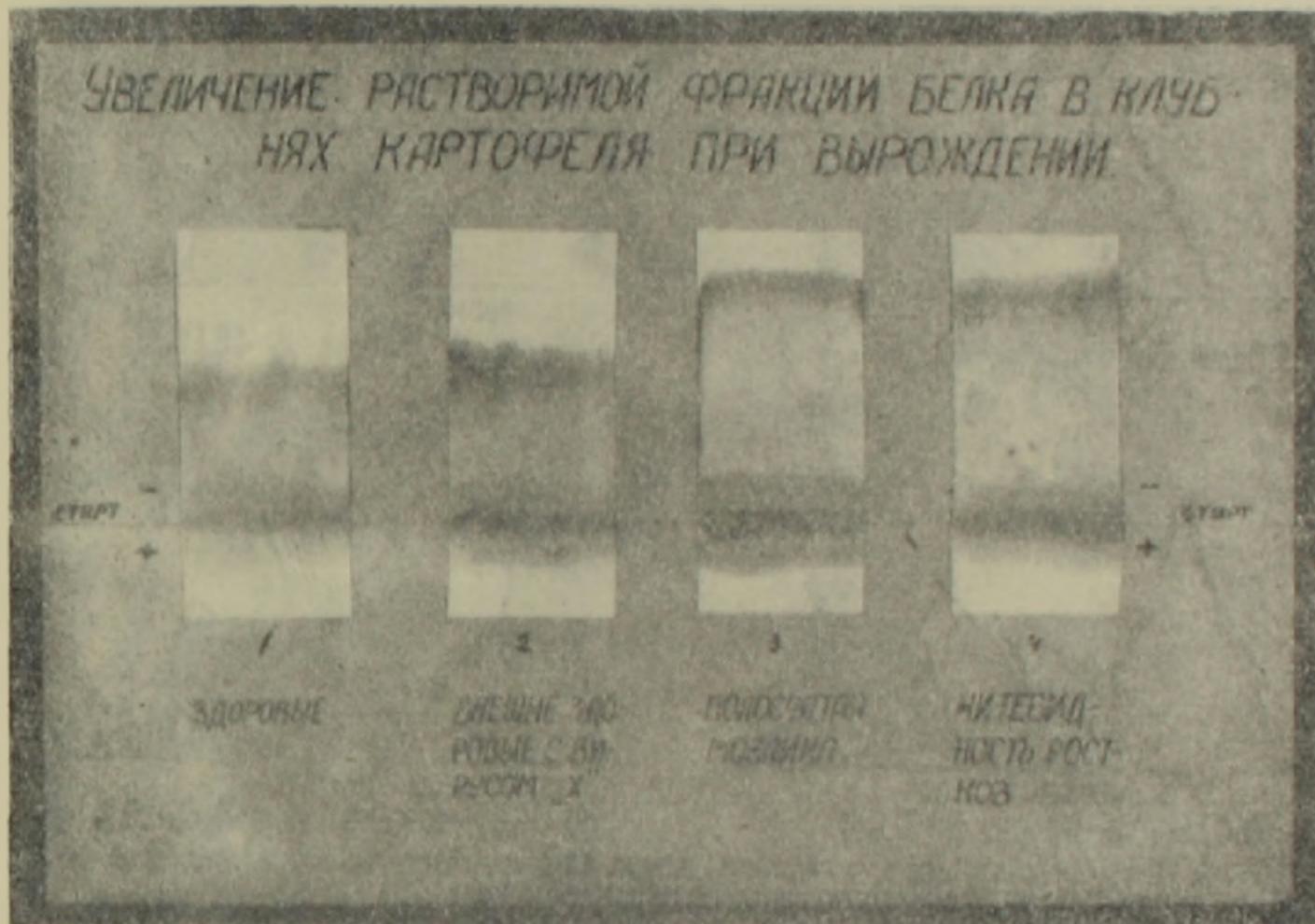


Рис. 1. Увеличение растворимой фракции белка в клубнях картофеля при вырождении: 1) клубни здоровых растений; 2) клубни внешне здоровых растений с вирусом X; 3) клубни от растений, зараженных полосчатой мозаикой; 4) клубни, растений, полученных из клубней с нитевидными ростками.

Измерение площади каждой фракции производилось планиметром. Величина площади приводится в относительных единицах.

Процентное содержание каждого компонента (A) равно площади соответствующей кривой (a), отнесенной к площади всей электрофоретической кривой (S), то есть

$$A = \frac{a}{S} \cdot 100.$$

Наиболее подвижная фракция белка в соке клубней вырожденных растений составляет 50,5—51,6% к общему содержанию белка, а в соке клубней здоровых растений—42,1—42,6%, т. е. на 16,7—17,5% меньше, чем у вырожденных растений.

Клубни растений из клубней с нитевидными ростками и от растений полосчатой мозаики имеют почти одинаковое количество наиболее подвижного белка. У них нет практической разницы и между общим количеством белка.

В соке клубней внешне здоровых растений с вирусом X содержание общего количества белка на 13,9% больше, чем в клубнях здоровых растений без вируса X, при одинаковом содержании наиболее растворимой фракции белка—42,1 и 42,6%.

Л. В. Рожалин отмечает, что при вырождении наиболее сильно возрастает количество основных свободных аминокислот, которые содержат в своем составе максимальное количество азота (аргинин, лизин).

ЭЛЕКТРОФОРЕГРАММЫ РАСТВОРИМОЙ ФРАКЦИИ БЕЛКА В КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ

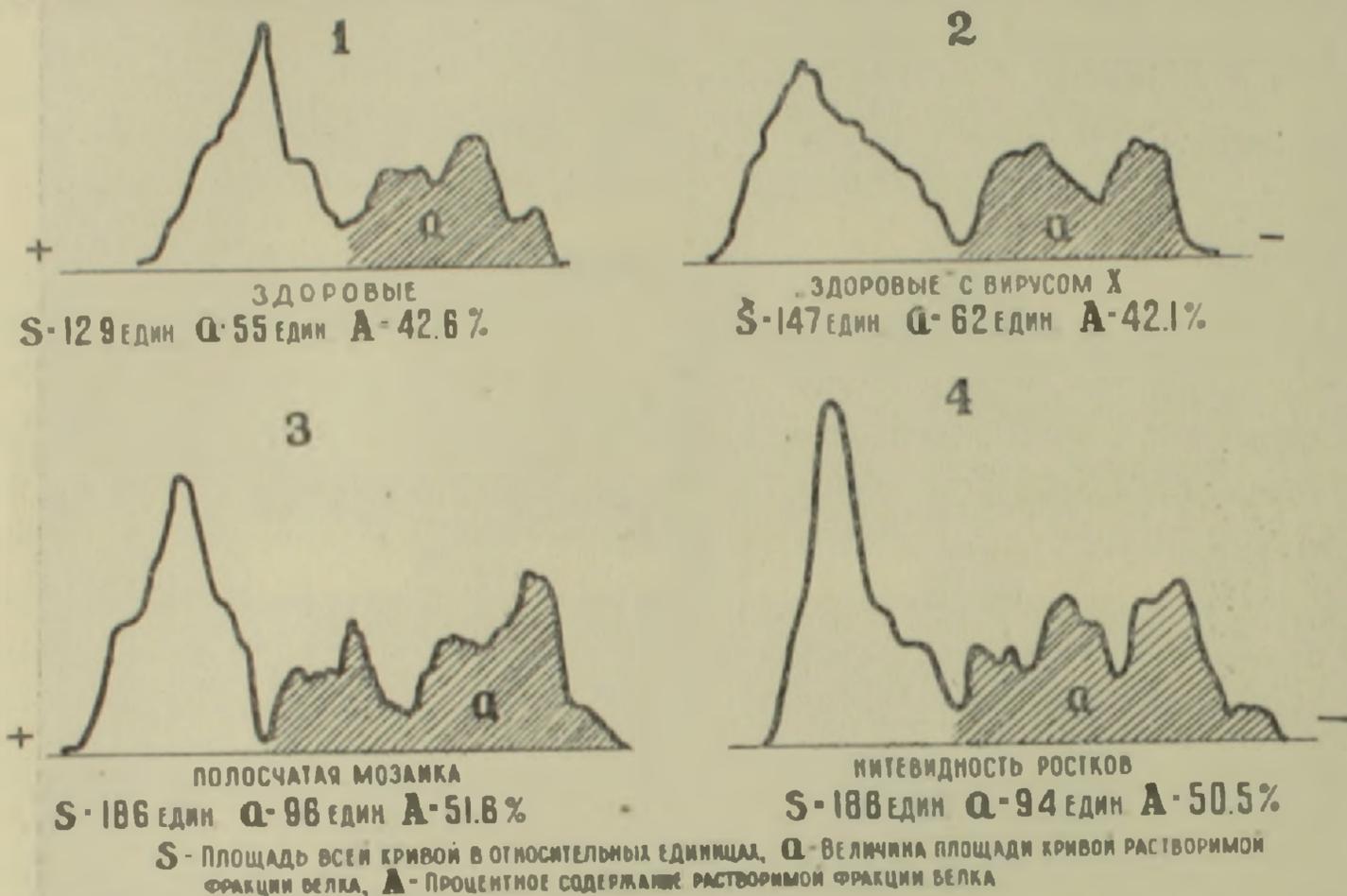


Рис. 2. Электрофореграммы растворимой фракции белка в клубнях картофеля: клубни здоровых растений. S = 129 единиц, a = 55 единиц, A = 42,6%; 2) клубни внешне здоровых растений с вирусом X. S = 147 единиц, a = 62 единиц, A = 42,1%; 3) клубни от растений, зараженных полосчатой мозаикой. S = 186 единиц, a = 96 единиц, A = 51,6%; 4) клубни растений, полученных из клубней с нитевидными ростками. S = 188 единиц, a = 94 единиц, A = 50,5%. (S — площадь всей кривой в относительных единицах, a — величина площади кривой растворимой фракции белка, A — процентное содержание растворимой фракции белка).

Им разработан метод определения количества свободных аминокислот в соке клубней картофеля при окрашивании нингидрином. Этот способ основан на визуальном определении трех групп аминокислот—основных, «нейтральных» и монокислот. При этом методе на середину ленты наносится по 0,040 мл сока из клубней. Электрофорез производится на фосфатном буферном растворе pH 6,98 в течение 20 мин. при напряжении 500—1000 вольт и силе тока 30 миллиампер. После электрофореза ленты просушивались и окрашивались обработкой 0,5% раствором нингидрина в ацетоне. Спустя два часа на лентах появляется окраска.

При этом способе электрофореза, основные аминокислоты заряжаются положительно и по ленте продвигаются в сторону катода.

Увеличение основных аминокислот при разных формах вырождения

видно из прилагаемых электрофоретических окрашенных лент (рис. 3). Вычерченные на денситометре кривые показывают относительное содержание основных свободных аминокислот в соке клубней, вырожденных и здоровых растений (рис. 4).

Интересно отметить, что и по содержанию свободных аминокислот имеется существенная разница между вырожденными и здоровыми ра-



Рис. 3. Электрофоретическое разделение свободных аминокислот в клубнях картофеля: 1) клубни здоровых растений; 2) клубни здоровых растений с вирусом X; 3) клубни от растений, зараженных полосчатой мозаикой; 4) клубни растений, полученных из клубней с нитевидными ростками.

стениями. Общее содержание свободных аминокислот в клубнях вырожденных растений на 34,6—41,4% больше по сравнению с клубнями здоровых растений.

Содержание основных аминокислот в соке клубней вырожденных растений составляет 20,6—21,7% к общему содержанию свободных аминокислот, при их содержании в клубнях здоровых растений 12,9—17,5%. В клубнях вырожденных растений абсолютное содержание основных аминокислот в 2,1—2,4 раза больше по сравнению с клубнями здоровых растений.

Клубни внешне здоровых растений с положительной реакцией на вирус X имеют общее количество свободных аминокислот на 17,4% больше, чем клубни растений с отрицательной реакцией на вирус X, содержание же основных аминокислот у первых меньше.

Полученные результаты подтверждают данные химического анализа: клубни от вырожденных растений имеют растворимой фракции белка больше, чем клубни здоровых растений.

В литературе можно встретить сообщения, что при вырождении происходит изменение и в составе свободных аминокислот. (Б. И. Бернштейн и др. [2]). В наших опытах содержание свободных аминокислот в клубнях от вырожденных растений больше, чем в клубнях здоровых растений. У первых резко изменяется состав свободных аминокислот.

Известно, что при высокой температуре клубни картофеля испытывают недостаток в углеводной пище. Ввиду ослаблений активности ферментов, управляющих синтезом крахмала при высокой температуре из первичных продуктов фотосинтеза, протеологические ферменты синтезируют азотистые вещества (Б. А. Рубин—7, А. Б. Кадымова—14).

ЭЛЕКТРОФОРЕГРАММЫ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ

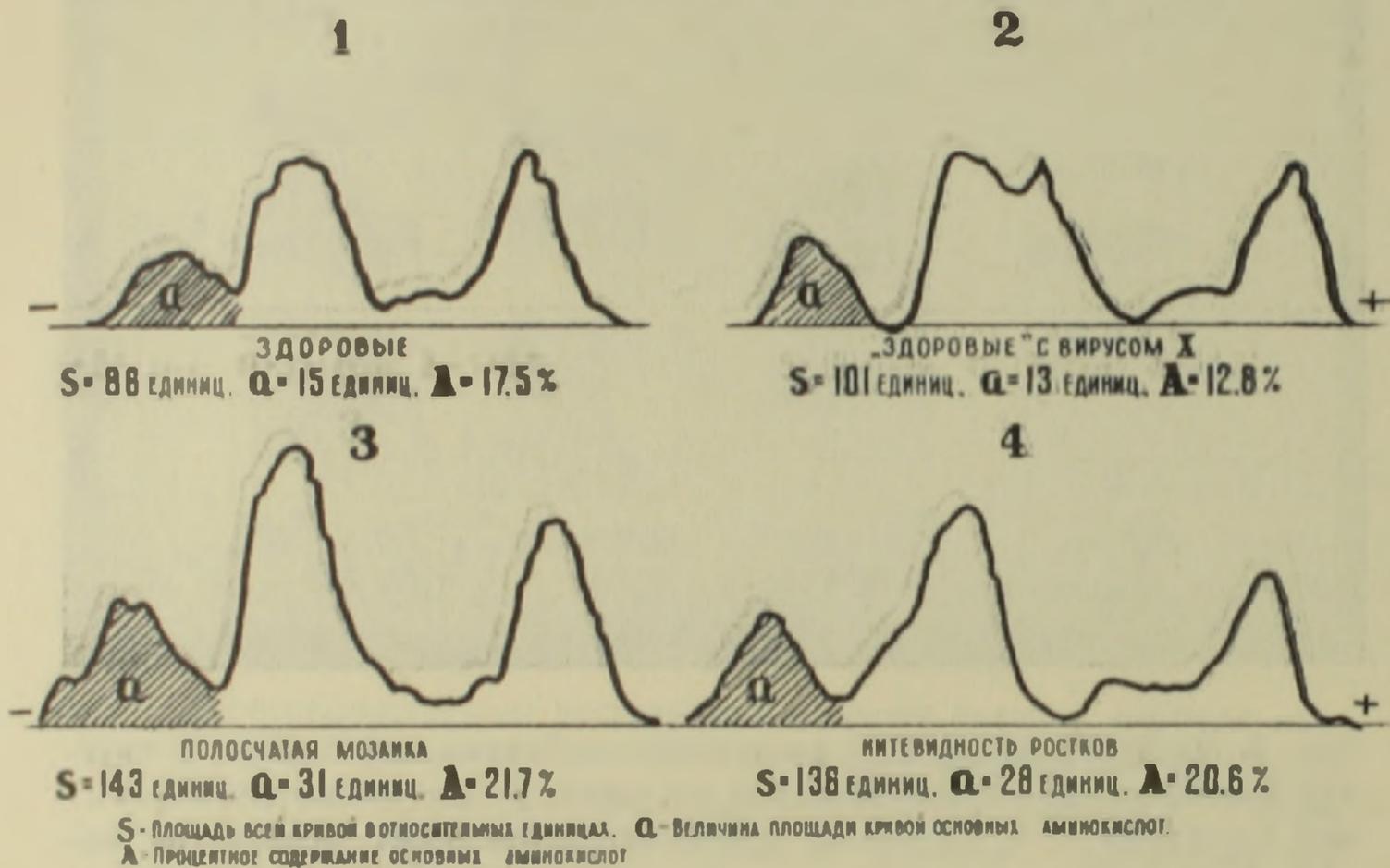


Рис. 4. Электрофореграммы свободных аминокислот в клубнях картофеля: 1) клубни здоровых растений. $S=86$ единиц, $a=15$ единиц, $A=17.5\%$; 2) клубни внешне здоровых растений с вирусом X. $S=101$ единиц, $a=13$ ед., $A=12.8\%$; 3) клубни от растений, зараженных полосчатой мозаикой: $S=143$ единиц, $a=31$ ед., $A=21.7\%$; 4) клубни растений, полученных из клубней с нитевидными ростками. $S=136$ единиц, $a=28$ ед., $A=20.6\%$. (S —площадь всей кривой в относительных единицах, a —величина площади кривой основных аминокислот, A —процентное содержание основных аминокислот).

Увеличение растворимой фракции белка при всех формах вырождения, по-видимому, происходит вследствие недостатка углеводов, в результате этого образуется в повышенном количестве низкомолекулярные растворимой фракции, для образования же более высокомолекулярных, менее растворимых фракций белка не хватает энергетического материала в форме углеводов.

В ы в о д ы

1. При вырождении картофеля в клубнях происходит уменьшение содержания сухого вещества и крахмала и некоторое увеличение растворимой фракции белка.

2. Клубни от растений с положительной реакцией на вирус X имеют тенденцию к увеличению процента растворимой фракции белка как абсолютно, так и относительно.

3. Вырождение картофеля сопровождается увеличением содержания свободных аминокислот. Наиболее сильно возрастает количество основных аминокислот.

4. Таким образом, вырождение является результатом нарушения нормального хода обмена веществ. При вырождении происходит изменение соотношения между главнейшими питательными веществами — азотистыми и углеводными — в сторону увеличения азотистых веществ.

Тимирязевская сельскохозяйственная академия
г. Москва

Поступило 12.VII 1961 г.

Վ. Ա. ԱՎԱԿՅԱՆ

ԱՌՈՂՋ ԵՎ ԱՅՆԱՍԵՐՎԱԾ ԿԱՐՏՈՅԻՒԻ ԲԻՈԲԻՄԻԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Արտաքին միջավայրի անբարենպաստ գործոնները սխտեմատիկորեն խախտում են կարտոֆիլի պալարների սնումը, որի հետևանքով և խախտվում է բույսերի նորմալ նյութափոխանակության պրոցեսը: Այլասերումն առաջանում է հենց այս պրոցեսի խախտման հետևանքով: Այստեղից էլ պարզ է, որ այդ պրոցեսների ուսումնասիրությունը շատ կարևոր է, քանի որ այդ հնարավորություն կտա հասկանալու տեղի ունեցող երևույթի էությունը:

Մենք ուսումնասիրել ենք այլասերվող պալարների մեջ տեղի ունեցող բիոքիմիական փոփոխությունները: Այդ նպատակով ուսումնասիրել ենք 1959 և 1960 թթ. ստացված Հորխ սորտի պալարները: Սրանք վերցվել են առողջ բույսերից և այլասերմանը հատուկ հիվանդություններով (դանդրավոր մոզայիկա, շերտավոր մոզայիկա, բծավորություն, տերևների ոլորվածություն, բևյանման ծիլ ունեցող պալարներ) տառապող բույսերից: Անալիզի ժամանակ ուշադրություն է դարձվել շոր նյութի պարունակության, օսլայի և սպիտակուցի լուծվող ֆրակցիայի վրա: Սպիտակուցը որոշվել է կշռային եղանակով, օսլան՝ պոլյարիմետրիկ, ըստ էվերսի: Բացի այդ, էլեկտրոֆորեզով թղթի վրա որոշվել են սպիտակուցի լուծվող ֆրակցիան և պալարների ազատ ամինոթիոնների քանակությունը:

Ուսումնասիրությունները հանդեպրել են հետևյալ եզրակացություններին.

1. Կարտոֆիլի այլասերման ժամանակ պալարներում տեղի է ունենում

չոր նյութի և օսլայի պարունակության պակասեցում և սպիտակուցի լուծվող ֆրակցիայի որոշ ավելացում:

2. X վիրուսի նկատմամբ դրական ռեակցիա ունեցող բույսերի պալարները հակում ունեն ավելացնելու սպիտակուցի լուծվող ֆրակցիայի տոկոսը, ինչպես բացարձակորեն, այնպես էլ հարաբերականորեն:

3. Կարտոֆիլի սյլասերմանը զուգակցում է ազատ ամինոթթուների ավելացումը: Ամենից ուժեղ ավելանում է հիմնական ամինոթթուների քանակությունը:

4. Այսպիսով, սյլասերումը նյութափոխանակության նորմալ ընթացքի խախտման արդյունք է հանդիսանում: Սյլասերման դեպքում սնման ամենազլխավոր նյութերի միջև՝ ազոտական և ածխաջրածնային, փոփոխություն է տեղի ունենում դեպի ազոտային նյութերի ավելացումը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бернштейн Б. И. и др. Доклады АН СССР, т. 120, 2, 1958.
2. Бернштейн Б. И. и др. Доклады АН СССР, т. 134, 4, 1960.
3. Воробьева М. Н. Известия АН СССР, серия биолог., 6, 1939.
4. Кадымова А. Б. Углеводный обмен при вырождении картофеля в условиях Азербайджана. Автореферат диссертации, Баку, 1952.
5. Рожалин Л. В. Агротехника семенного картофеля. Изд. МСХ, М., 1958.
6. Рубин Б. А. Журн. Проблемы биохимии в мичуринской биологии. Вып. 1, 1949.
7. Топеха Е. Ф. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. Серия III, 14, 1936.