

С. А. МАРУТЯН

ИЗМЕНЕНИЯ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЕРИОД ПОКОЯ ВИНΟГРАДНОЙ ЛОЗЫ

Исследованиями ряда авторов [9, 10] показано, что гибель растений от низких температур связана с существенным повреждением протоплазмы при его обезвоживании вследствие коагуляции белков. Гебер [10] экспериментально доказал наличие в клетках холодоустойчивой и холодочувствительной фракций белков, причем последняя обладает способностью предохранять первую от коагуляции.

Важным моментом в свойстве морозоустойчивости является динамика системы синтеза и гидролиза белков, происходящая путем полимеризации и деполимеризации аминокислот. В литературе отсутствуют данные относительно поведения аминокислот в процессе закаливания и зимовки виноградной лозы.

Задачей наших исследований являлось изучение поведения свободных аминокислот в условиях естественной зимовки и искусственного промораживания побегов у сортов винограда с разной морозостойкостью. Хроматографическому исследованию были подвергнуты побеги морозостойкого сорта Русский Конкорд и неморозостойкого — Араксени белый. Спиртовые экстракты аминокислот очищались на ионообменной колонке, с катионитом КУ-1, после чего сгущались при 40—45°C, и подвергались хроматографированию на медленной бумаге Ленинградская № 2 с четырехкратным пропусканием растворителя Н-бутанол-уксусная кислота—вода (4 : 1 : 5). Проявку проводили нингидрином и изаттином в ацетоне.

Из приведенных хроматограмм видно, что осенью (рис. 1) в побегах неморозостойкого сорта (Араксени белый) обнаруживается 16—17 аминокислот, а у морозостойкого сорта — всего 13—14. У первого набор свободных аминокислот больше благодаря наличию именно тех циклических аминокислот (тирозина и фенилаланина), которые, как было нами ранее показано [1], не вошли в состав их белков. У морозостойкого сорта эти аминокислоты находились в связанном виде в белках. Следовательно, как выяснилось, качественное различие белков у исследованных сортов было вызвано не отсутствием, а другими причинами, мешающими включению тирозина, фенилаланина в состав белков у неморозостойкого сорта. В этот период неморозостойкий сорт содержит также шистин, шистенин, играющие активную роль в окислительно-восстановительных процессах.

В осенних образцах обнаруживаются пептиды (из них идентифицирован глутатин). Интересным моментом является наличие следов аспарагина только у морозостойкого сорта. Таким образом, осенью каче-

Хроматограммы аминокислот в побегах винограда (рис. 1–4). Растения, зимовавшие без укрытия: 1, 2 — сорт Русский Конкорд, 3, 4 — Араксени белый. Растения, зимовавшие с укрытием: 5, 6 — Русский Конкорд, 7, 8 — Араксени белый. Аминокислоты: 1 — глутатинон, 2 — цистин, 3 — цистеин, 5 — лизин, 6 — гистидин, 7 — аспаратин, 8 — аргинин, 9 — глутамин, 10 — аспарагиновая кислота, 11 — серин, 12 — глицин, 13 — треонин, 13'' — оксипролин, 14 — глутаминовая кислота, 15 — аланин, 16 — пролин, 17 — гамма-аминомасляная кислота, 18 — тирозин, 19 — неизвестная аминокислота, 19 — триптофан, 20 — валин, 23 — фенилаланин, 25 — лейцин.

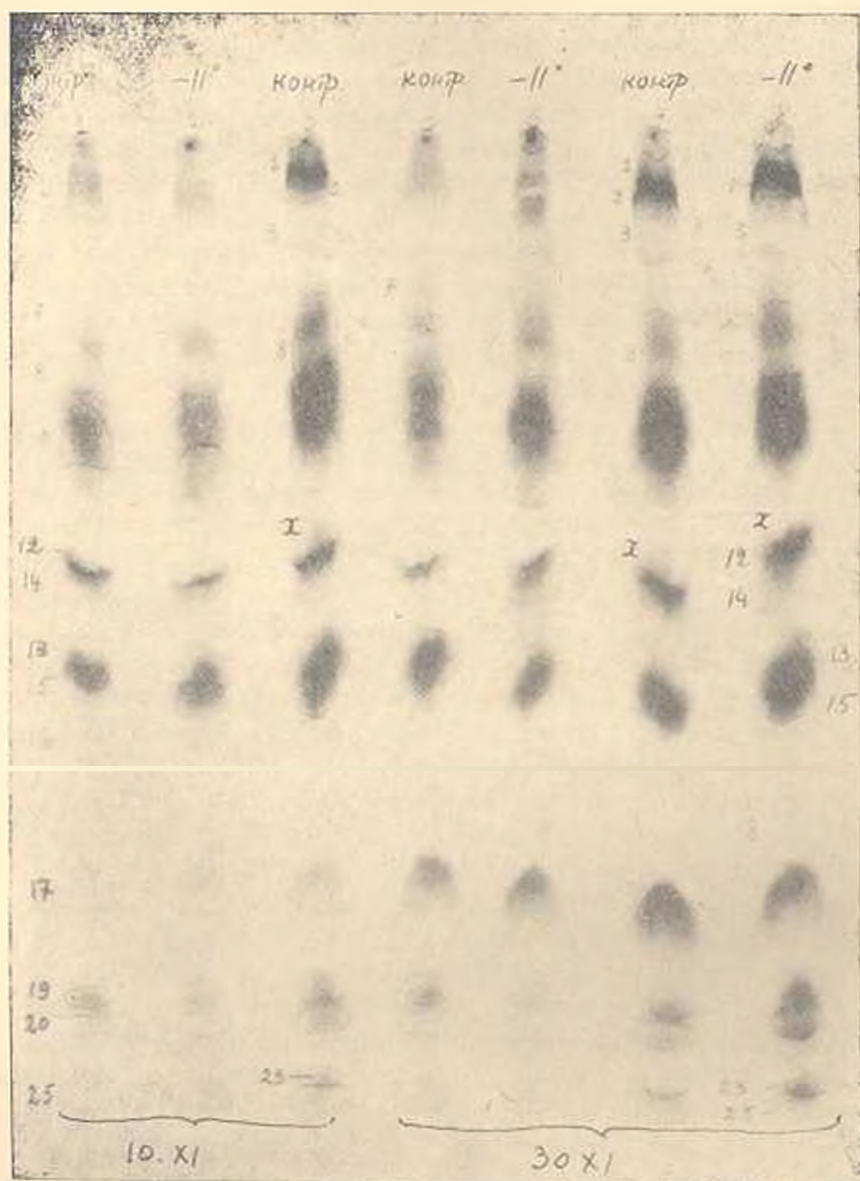


Рис. 1. Октябрь, Ноябрь в конце вегетации и Март — после осенних заморозков.

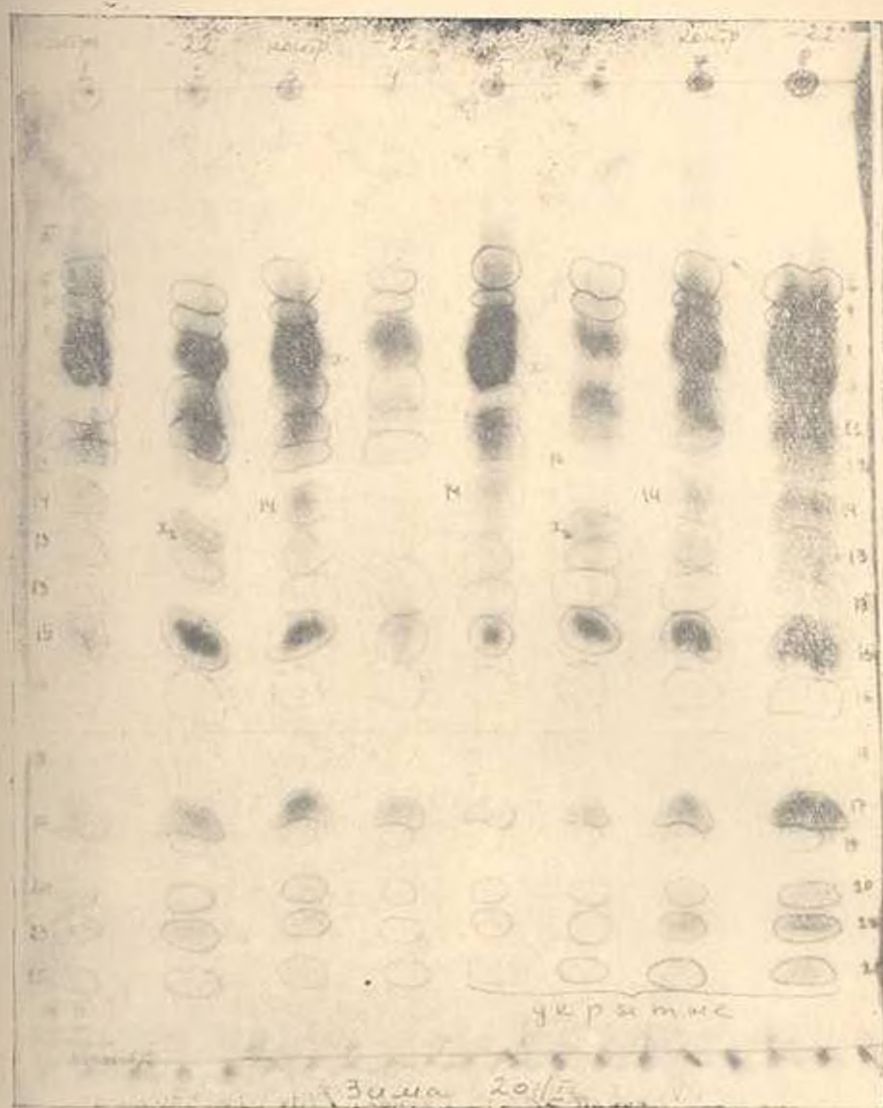


Рис. 2. Зима, 20.1.

ственный состав свободных, а также связанных в белках аминокислот (как это было выявлено ранее) у морозостойких и неморозостойких сортов заметно отличается друг от друга. Как воздействие естественных осенних заморозков, так и искусственное промораживание не меняет набор свободных аминокислот. Заметное изменение в составе аминокислот происходит зимой (рис. 2). Появляются аминокислоты группы основания: лизин, гистидин. Обнаруживается оксипролин. Исчезает разница между сортами с появлением свободного тирозина и фенилаланина. Обнаруживается новая аминокислота, возможно пипеколиновая, которая является продуктом обмена лизина [6]. В составе связанных в белках аминокислот минимальное различие вновь отмечается зимой, когда

в состав белков неморозостойкого сорта вошли те аминокислоты, отсутствием которых он отличался от морозостойкого сорта. Интересным моментом является также реакция сорта на длительное промораживание. Под воздействием -22°C в течение 24 час. у морозостойкого сорта, как и у неморозостойкого, в условиях открытой зимовки исчезает глутаминовая кислота. Особенно интересен тот факт, что при зимовке с укрытием у обоих сортов после промораживания побегов глутаминовая кислота не исчезает. Видно поведение глутаминовой кислоты находится в зависимости от формы зимовки растений.

В естественных условиях, когда растения были неожиданно подвергнуты воздействию сильного похолодания ($-17,7^{\circ}\text{C}$), как видно из рис. 3, отмечается исчезновение не только глутаминовой, но и аспарагиновой кислоты с нарастанием количества его амида — аспарагина и появлением глутамина. На этот раз укрыто-перезимовавшие растения, откопанные за 10 дней до похолодания, проявили сходное с открыто-зимовавшими растениями поведение. Видимо, за 10-дневный срок в этом отношении они поравнялись с неукрытыми растениями.

Важная роль дикарбоновых аминокислот в обмене веществ растений связана не только с их многообразным ферментативным превращением как таковых, но и, в первую очередь, с тем, что эти аминокислоты явля-

ются материалом, из которого синтезируются амиды — глутамин и аспарагин. Поэтому дикарбоновые аминокислоты могут рассматриваться как своеобразные акценторы аммиака, обезвреживающие его токсическое действие на клетки.

По мнению Н. А. Хлебицкой [8], аммиак в тканях растений может накапливаться не только при долгом воздействии высокой температуры, но и при низкой. Возможно, в наших опытах при длительном воздействии низких температур (порядка минус $22-24^{\circ}$ в течение 24 часов), а

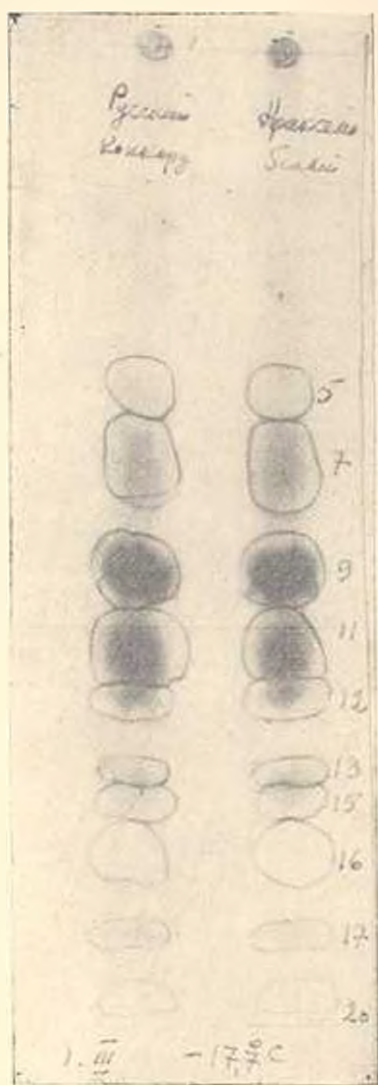


Рис. 3. 1. III — после внезапного похолодания $-17,7^{\circ}\text{C}$ (в естественных условиях).

также весной при несвойственно резком падении температуры до -17.7°C в растениях для обезвреживания аммиака дикарбоновые аминокислоты превратились в соответствующие амиды.

По данным Э. С. Авунджяна [2], под воздействием темноты на табак среди аминокислот наиболее существенные изменения происходят именно в содержании этих аминокислот и их амидов. Б. П. Строганов [7].

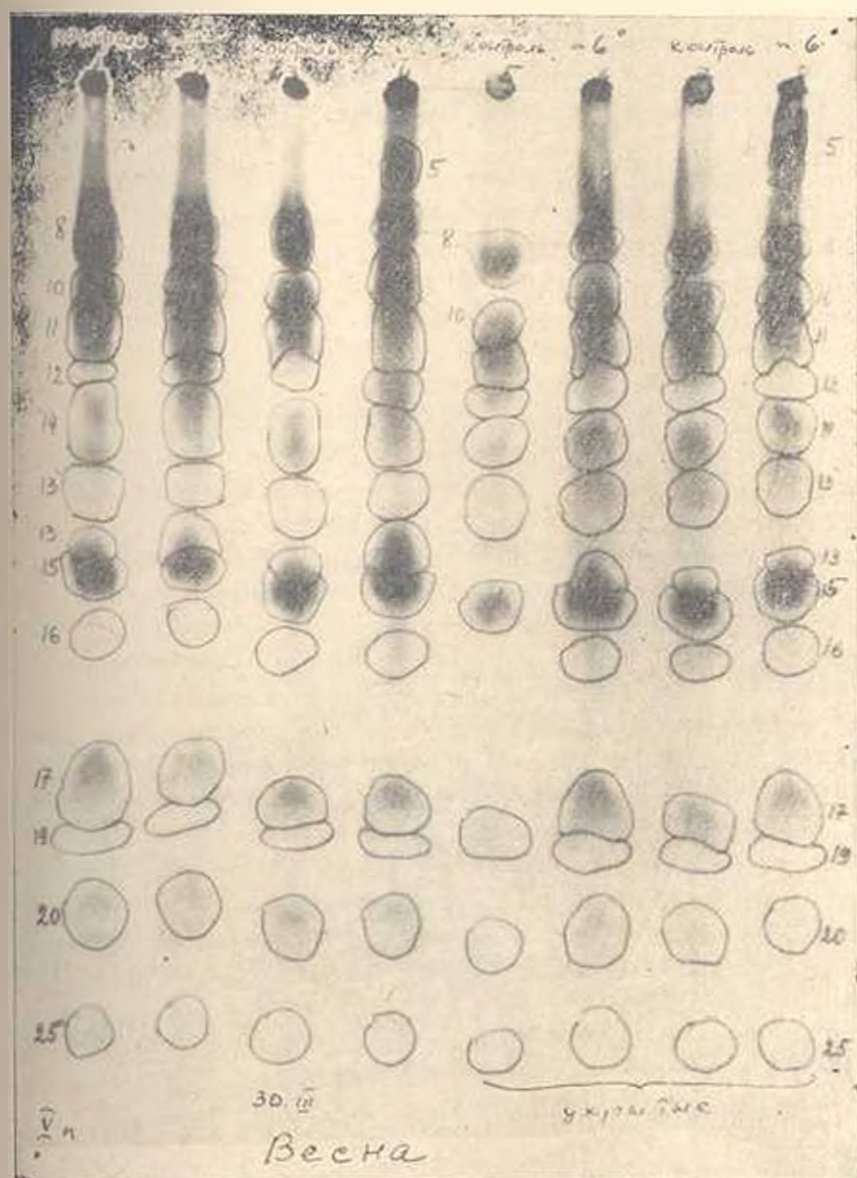


Рис. 4. Весна, 30.III — до сокодвижения.

М. Г. Зайцева [3, 4] наблюдали накопление амидов и при другом неблагоприятном условии внешней среды — засолении почвы. Необходимо отметить, что аспарагин и глутамин практически почти не окисляются

Следовательно, амидная группа, как указывает В. Л. Кретович [5], является как бы «замком», предохраняющим аспарагиновую и глутаминовую кислоты от окислительного расщепления. В течение долгого времени считалось, что амиды не могут участвовать в реакциях переаминирования. Сейчас доказано, что существуют специальные ферментные системы, которые производят как реакцию переаминирования, так и реакцию дезаминирования с образованием новых аминокислот и амидов. Глутамин и глутаминовая кислота вновь могут быть использованы на синтез белка.

Таким образом, установленный нами факт превращения дикарбоновых аминокислот в их амиды является одним из ответных приспособительных реакций побегов винограда на сильное и долгое воздействие отрицательных температур. При таком воздействии не исключена возможность также превращения глутаминовой кислоты в пролин или же в гамма-аминомасляную кислоту [6], накапливающиеся в это время в больших количествах. Поэтому появление амидов можно рассматривать и с точки зрения предохранения некоторой части глутаминовой кислоты от полного ее расщепления, так как глутаминовая кислота в последующем необходима растению. В условиях естественной и суровой зимовки этот процесс происходит не скачкообразно, а постепенно. Через 30 дней, с нарастанием положительных температур, исчезают тирозин, фенилаланин, гистидин, амиды и увеличивается количество глутаминовой и аспарагиновой кислот. Возможно, что именно в это время происходит ресинтез белков, как это происходит и с крахмалом. В сортовом отношении в это время особых различий по составу аминокислот не наблюдается. Основные различия между изученными сортами существуют осенью. Эти данные свидетельствуют о значительном качественном различии процесса закалки у морозостойкого и неморозостойкого сортов винограда. Зимой, после закалывания в условиях открытой зимовки, а также весной — после раскаливания, по составу аминокислот эти сорта находятся в одинаковом положении. Это не говорит о том, что они совершенно тождественны. Сортные различия явно имеются в количественном содержании той или иной аминокислоты (глутаминовой, аспарагиновой, аминомасляной, аланина, пролина и др.). Количественное хроматографическое изучение отдельных аминокислот является вопросом наших дальнейших исследований.

Таким образом, характер обмена аминокислот в побегах винограда находится в зависимости от степени закалывания, свойства морозостойкости и воздействия холода.

В ы в о д ы

I В I фазе закалывания (до воздействия отрицательных температур) набор (число) свободных аминокислот у неморозостойкого сорта превосходит над таковым морозостойкого сорта за счет аминокислот (тирозин, фенилаланин и цистин), еще не вошедших в состав белков.

2. Минимальное различие между сортами наблюдается зимой, когда после естественного закалывания набор свободных аминокислот обогащается за счет появления щелочных аминокислот — лизина, гистидина, а также циклических — оксипролина и фенилаланина.

3. Продолжительный холод вызывает исчезновение дикарбоновых аминокислот (глутаминовой и аспарагиновой) с образованием их амидов, а также в результате их превращения в другие аминокислоты. Образование амидов можно рассматривать, с одной стороны, как реакцию обезвреживания ядовитого для клеток аммиака и, с другой, как средство, предохраняющее дикарбоновые аминокислоты от их дальнейшего расщепления.

Армянский институт виноградарства,
виноделия и плодоводства

Поступило 15.VII 1963 г.

Ս. Ա. ՄԱՐԿԻԶԱՆ

ԱՋԱՏ ԱՄԻՆՈԹՈՒՆՆԵՐԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ԽԱՂՈՂԻ ՇՎԵՐՈՒՄ ՀԱՆՔՈՍՏԻ ՇՐՋԱՆՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Քրոմատոգրաֆիկ մեթոդով հետազոտության է ենթարկվել խաղողի ցրտադիմացկուն և ոչ ցրտադիմացկուն սորտերի շվերի ամինոթթվային կազմի փոփոխությունը ձմռան հանգստի շրջանում, բնական պայմաններում, ինչպես և շվերի արհեստական սառեցումից հետո:

Ստացված արդյունքները ցույց են տվել, որ ազատ ամինոթթուների կազմը կախված է սորտի ցրտադիմացկունության հատկությունից, ցրտի ազդեցությունից և բույսի կոփման փուլից:

1. Կոփման առաջին փուլում ոչ ցրտադիմացկուն սորտի մոտ ամինոթթվային կազմն ավելի բազմազան է, քան ցրտադիմացկուն սորտի մոտ՝ ի հաշիվ այն ազատ ամինոթթուների առկայության (տիրոզին, ֆենիլալանին, ցիստին), որոնք բացակայում են նրա սպիտակուցների կազմում: Այդ ժամանակ արհեստական սառեցումից հետո էլ շվերի ամինոթթվային կազմը չի փոխվում: Յուրաքանչյուր սորտ շարունակում է պահպանել իր ամինոթթվային կազմը:

2. Ուսումնասիրված սորտերը ամինոթթվային կազմի տեսակետից մոտեցում են իրար ձմռանը, երբ բնական պայմաններում անցնելով կոփման երկրորդ փուլը, նրանց մոտ հանդես են գալիս լիզինը, հիստիդինը, սբսպրոլինը, իսկ ցրտադիմացկուն սորտի մոտ՝ նաև նախկինում չհայտնաբերված ֆենիլալանինը և տիրոզինը:

3. Երկարատև և խիստ ցրտի ազդեցության տակ երկու սորտի մոտ էլ շվերից անհետանում են դլյուտամինաթթուն և ասպարադինաթթուն, առաջացնելով համապատասխան ամիդներ (ասպարադին, գլուտամին): Ամիդների զույգումը կարելի է դիտել մի կողմից՝ որպես ցրտի ազդեցության տակ անջատվող ամիակի վնասագերծում, իսկ մյուս կողմից՝ որպես այդ դիկարբոնային ամինաթթուները լրիվ քայքայումից պաշտպանելու միջոց:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Б. Л., Марутян С. А., Арутюнян Г. С. Садоводство, виноградарство и птицеводство Молдавии, 2, 1962.
2. Авунджян Г. С. Известия с/х наук, 11, Ереван, 1962.
3. Зайцева М. Г. Физиология растений, т. 8, в. 3, 1961.
4. Зайцева М. Г., Садепко Д. М., Позднякова В. А. Физиология растений, т. 9, в. 1, 1962.
5. Кретович В. Л. Известия АН СССР, сер. биол., 2, 1958.
6. Майстер А. Биохимия аминокислот, ИЛ, 1961.
7. Строгаков Б. П. Физиологические основы солеустойчивости растений. М., 1962.
8. Хлебникова Н. А. Труды Института физиол. растений им. Тимирязева, т. 1, в. 2, 1937.
9. Levitt Y. Plant Physiology vol. 34, 4, 101—102, 1959.
10. Heber Ulrich. Planta 54, 34—67, Heft 1. Archiv für Wissenschaftliche Botanik, 1959.