

М. М. ШАЛДЖЯН, Э. С. АВУНДЖЯН

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА АМИНОКИСЛОТ В ЛИСТЯХ ВОСПРИИМЧИВЫХ, УСТОЙЧИВЫХ И ИММУННЫХ К ПЕРОНОСПОРОЗУ СОРТОВ ТАБАКА

Пероноспороз табака ведет к значительным сдвигам в процессе обмена аминокислот. Наиболее существенному колебанию подвергалось содержание аргинина. Во все сроки опыта по содержанию лизина и валина как устойчивый, так и иммунный сорта превосходят восприимчивый.

В пораженных растениях за счет снижения количества серина, тирозина и триптофана, аргинина и гамма-аминомасляной кислоты уменьшается сумма свободных аминокислот.

Исследования особенностей обмена аминокислот здоровых и пораженных листьев, а также различных по устойчивости к ложной мучнистой росе (пероноспороз) сортов табака представляют значительный интерес. Однако изучению этого вопроса посвящены лишь единичные работы [3, 8]. Исследования такого рода не только содействуют раскрытию химизма болезни, но и открывают широкие возможности для отбора устойчивых сортов, употребляемых в селекционно-гибридизационной работе.

В литературе имеются данные, указывающие на связь между устойчивостью растений к паразитам и особенностями белкового и аминокислотного обмена [1, 2, 6—9, 11, 15, 16].

Вопрос об особенностях обмена аминокислот у различных сортов табака, отличающихся степенью восприимчивости или устойчивости к пероноспорозу, мало освещен. В предыдущей работе нами [2] было показано, что пероноспороз вызывает заметные изменения в количественном содержании отдельных видов аминокислот. Одним из наиболее характерных проявлений пероноспороза является резкое возрастание количества белковых веществ и накопление бета-аланина в листьях восприимчивого сорта.

В статье приводятся данные о динамике содержания аминокислот в листьях восприимчивых, устойчивых и высокоустойчивых (практически иммунных) к болезни сортов табака, а также в листьях здоровых и пораженных пероноспорозом растений.

*Материал и методика.* Использовались сорта Остролист 2747-восприимчивый, Остролист 125-устойчивый и Хикс резистант-высокоустойчивый (практически иммунный). В ранние фазы развития растений в теплице проводилось искусственное заражение сеянцев, находящихся в фазе «ушек». Различные сорта выращивались в отдельных ящиках, содержащих почву : торф : песок в отношении 3:4:3. Заражение производилось опрыскиванием свежеприготовленной водной суспензией конидий гриба *Pegomyces*.



posroga tabacina. Контрольные ящики опрыскивались дистиллированной водой. Первые признаки болезни появились только на восприимчивом сорте Остролист 2747 на 4-й день после опрыскивания, а на 8-й — наблюдалось бурное развитие болезни. На следующий день образцы были зафиксированы в горячем этиловом спирте.

В вегетационном опыте изучали динамику содержания свободных аминокислот в онтогенезе в листьях табака, обладающих различной устойчивостью к пероноспорозу. Опыт был заложен на фоне NPK из расчета 0,15 г действующего начала на 1 кг почвы. Рассада, полученная в теплице, была высажена в сосуды 15 мая. Исследования проводились на тех же сортах, что и при искусственном заражении. Повторность опыта четырехкратная. Анализы производились в следующие сроки: а) в фазе бурного вегетативного роста—6/6, б) через 10 дней, в) через 20 дней, г) в фазе бутонизации—11/7. Для анализов отбирались 5—6—7—8 листья, считая снизу. Количество аминокислот определялось методом хроматографии на бумаге. С этой целью материал экстрагировался 75% этиловым спиртом, белки осаждались уксуснокислым свинцом. Смесь разделялась на хроматографической бумаге марки Ленинградская медленная растворителем н-бутанол: уксусная кислота: вода (5:1:5). На хроматограмму наносили экстракт из расчета 1,2 мг общего азота в точку. Разгонка 3—4-х кратная. Высушенные хроматограммы проявляли 0,25% раствором нингидрина в ацетоне. Элюцию пятен аминокислот производили 10 мл 75% этилового спирта с добавлением 0,5 мл 0,1% водного раствора сернокислой меди. Пролин определяли методом Грабетовой и Тупи [12]. Сравнение окрасок (против своего контроля) производилось на экстинкциометре типа Юрани-Ковач системы Орион при длине волны 530 миллимикрон. Анализ производился в 5 повторностях. Абсолютное количество аминокислот приводится в миллиграмм-процентах от общего азота. Для графического изображения данных мы обратились к приему, предложенному Посенгэмом [14], и выразили полученные данные в виде их логарифмов. В сумму аминокислот умышленно не включили фенилаланин, так как он имеет низкую чувствительность к нингидрину. Полученные данные приведены на рисунках и в таблице.

*Результаты и обсуждение.* Хроматографический анализ листьев табака испытываемых сортов позволил нам установить наличие в их составе большого набора аминокислот, представленных глутатионом, цистином и цистеином, гистидином, лизином, аспарагином, аргинином, глутамином, аспарагиновой, глутаминовой и гамма-аминомасляной кислотами, альфа- и бета-аланинами, серином, треонином, пролином, тирозином, триптофаном, валином, пипеколевой кислотой, фенилаланином и лейцинами.

Из приведенных данных (рис. 1) видно, что в листьях растений различных сортов содержание суммы аминокислот менялось весьма своеобразно, в зависимости от устойчивости сорта к болезни. Так 22-дневные растения различных сортов мало отличались по содержанию суммы аминокислот, однако, спустя 10 дней, они существенно отличались суммарным содержанием аминокислот. При этом содержание аминокислот практически не изменялось в листьях восприимчивого сорта, в то время как в листьях иммунного сорта Хикс сумма аминокислот возросла в 1,3, а в листьях устойчивого сорта—в 2,6 раза. Более существенные изменения в листьях происходили в последующие сроки. Вступление растений в фазу генеративного развития сопровождалось значительным падением суммарного содержания аминокислот в листьях всех групп растений. Наиболее резкое падение наблюдалось в листьях иммунного сорта Хикс (убыль—328%).



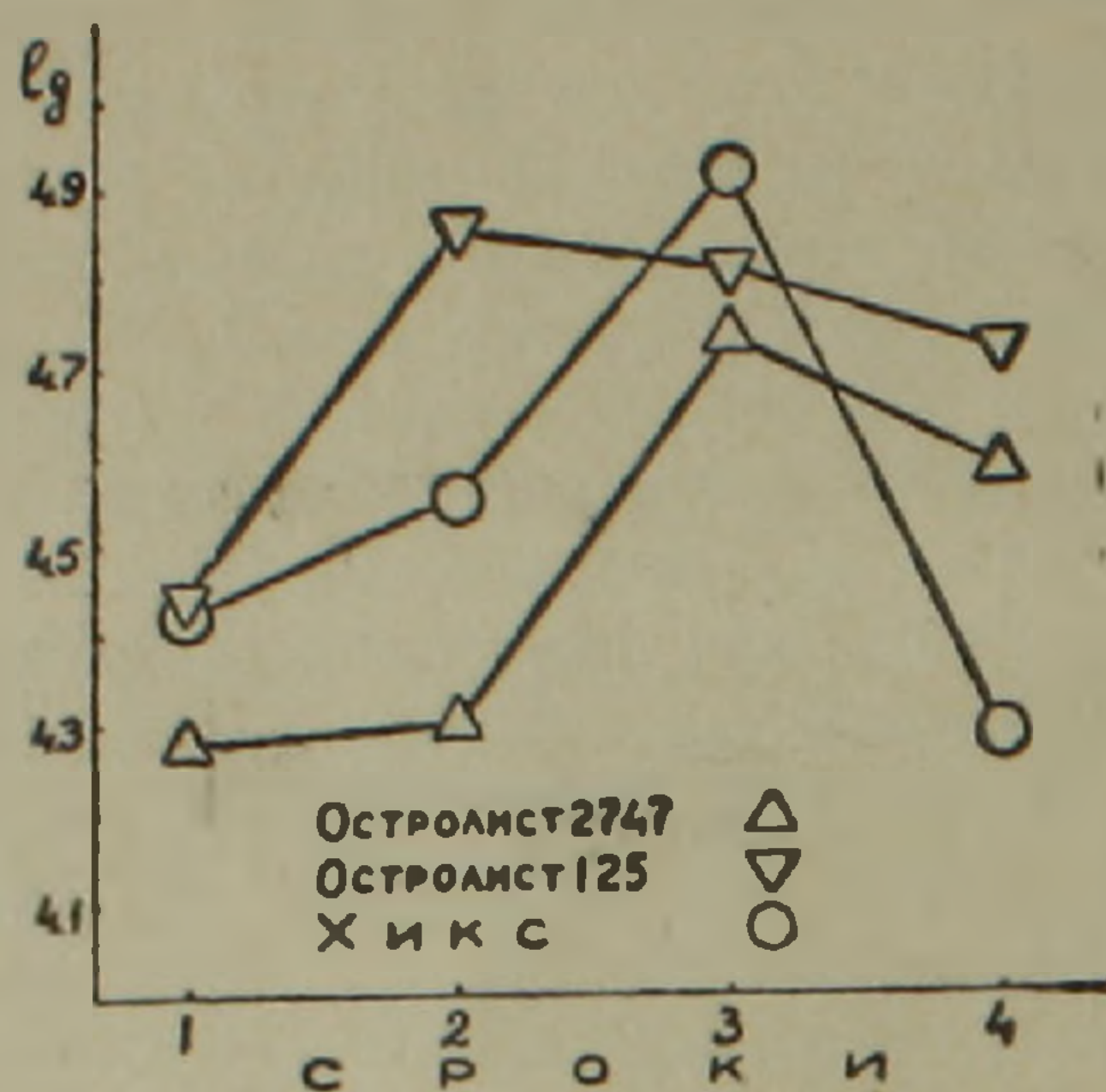


Рис. 1. Динамика суммарного содержания свободных аминокислот в листьях различных по устойчивости к пероноспорозу сортов табака. 1. Бурный вегетативный рост; 2. То же через 10 дней; 3. То же через 20 дней; 4. Бутонизация.

Среди отдельных компонентов наиболее существенному колебанию подвергалось содержание аргинина (рис. 2). Динамика накопления его в первые 3 срока опыта показала, что листья иммунного сорта Хикс по сравнению с листьями восприимчивого сорта содержали в 2—3 раза больше аргинина.

При изучении химического состава сырья, полученного из листьев устойчивых и иммунных к пероноспорозу сортов табака, а также комбинаций этих же сортов с восприимчивыми, нами показано [2], что листья первого гибридного поколения, не поражающиеся пероноспорозом, характеризовались большим содержанием аргинина. Поскольку и в данном опыте происходило накопление этой аминокислоты в листьях иммунных к пероноспорозу сортов, то можно предположить, что между приобретением устойчивости к пероноспорозу и метаболизмом аргинина существует определенная связь.

Является ли такое обогащение листьев аргинином предпосылкой или следствием их иммунности, решить трудно.

С наступлением фазы закладки бутонов резко падало количество аргинина в листьях иммунного сорта, тогда как в листьях восприимчивого сорта содержание его менялось незначительно. Разница между минимальным и максимальным содержанием аргинина в листьях различных по устойчивости сортов составляет: для восприимчивого сорта — 366,1—662,2 мг%, т. е. 81%; для иммунного — 112,7—1283,5 мг%, т. е. 1038%, для устойчивого — 295,3—966,9 мг%, т. е. 227%. К этой фазе резко падает также содержание аспарагина (2267,1—733,5 мг%), аспарагиновой кислоты (1467—333,4 мг%), треонина (183,4—36,6 мг%), альфа-аланина (4334,2—1133,5 мг%), пролина, тирозина и триптофана. Изменение содержания пролина, альфа-аланина, аспарагина и лизина в разные сроки опыта для всех сортов происходит примерно с одинаковой закономерностью (рис. 2). Для остальных же аминокислот ход кривых в большей степени зависит от испытанного сорта. Общей закономер-



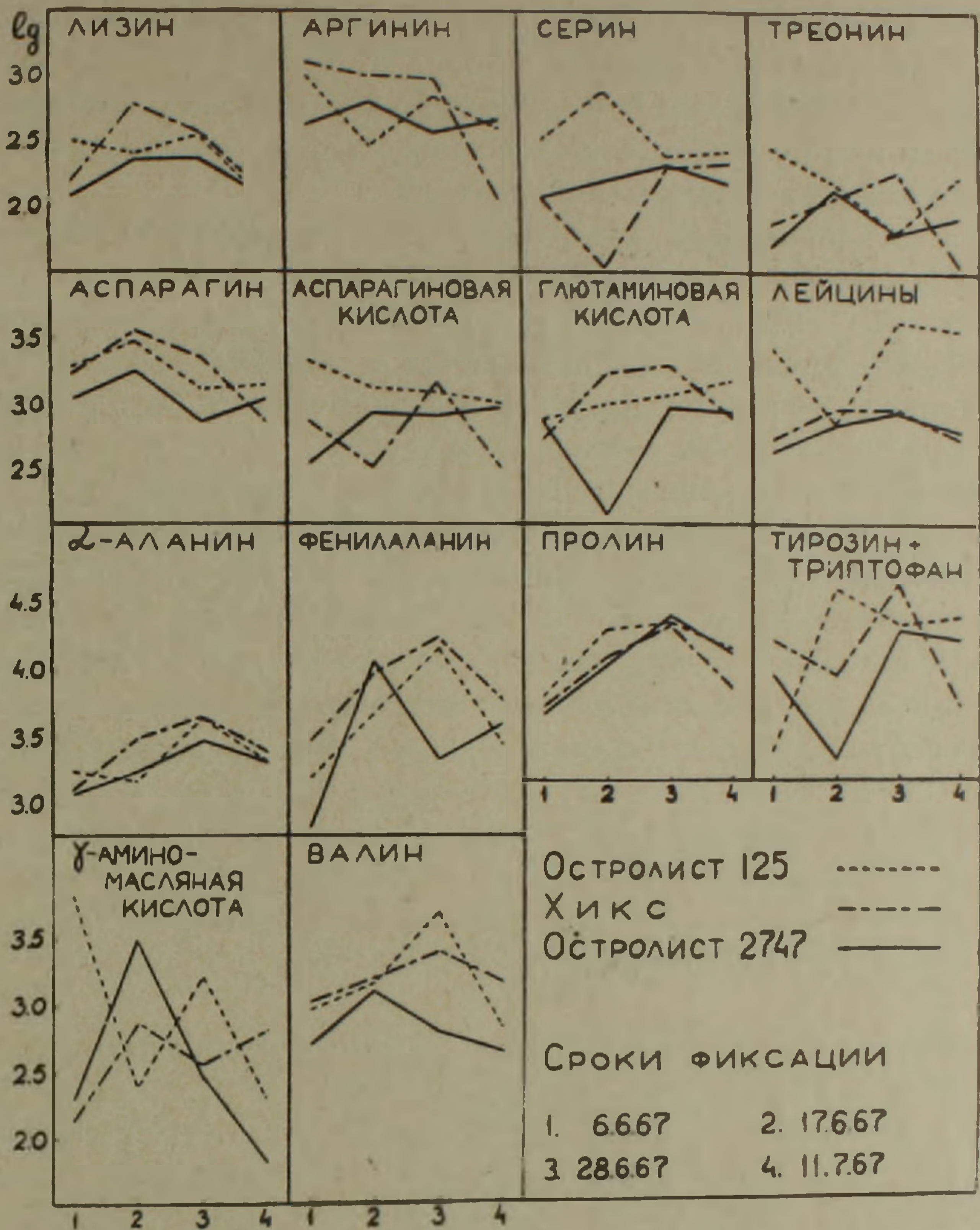


Рис. 2. Динамика содержания некоторых аминокислот в листьях различных по устойчивости к пероноспорозу сортов табака. Обозначения цифр 1—4 как на рис. 1.

ностью для всех сортов является то, что к фазе бутонизации резко падает содержание лизина, валина, альфа-аланина, пролина и лейцинов. По-видимому, эти аминокислоты принимают активное участие в цикле превращений, протекающих в растениях в период формирования генеративных органов.

Восприимчивый сорт отличался от иммунного и устойчивого сортов минимальным содержанием лизина и валина во все сроки опыта (то же самое можно сказать о глютаминовой кислоте, лейцинах, аспарагине и альфа-аланине). Разница в наличии свободных аминокислот у видов, сортов и гибридов табака устойчивых и восприимчивых к пероноспорозу изучалась Бербеком с сотр. [8]. Интересно отметить, что в фазе семядолей у устойчивых сортов найдено валина, метионина, аргинина и лизина больше, чем у восприимчивых сортов. Результаты наших опытов



в основном согласуются с данными этого автора. Возможно участие некоторых аминокислот (аргинина, валина и лизина) в реакциях приобретения устойчивости против пероноспороза. Степень же метаболической активности или темп изменений этих аминокислот может служить своего рода критерием устойчивости растений.

Для восприимчивого сорта характерно относительно незначительное (за исключением глютаминовой кислоты) варьирование содержания отдельных аминокислот в последовательные сроки. Создается впечатление, что аминокислоты включаются в метаболические реакции в процессе роста и развития растений, восприимчивых к болезни, не столь бурно, как при иммунном и устойчивом сортах.

Специфическое изменение в содержании аминокислот в листьях устойчивого сорта можно наблюдать лишь на стадии бурного роста и в первую очередь для гамма-аминомасляной кислоты, тирозина, триптофана и лейцинов. Характерные для этого сорта большие колебания в абсолютном содержании аминокислот в отдельные сроки опыта свидетельствуют о том, что большинство аминокислот активно участвует в метаболических процессах с самого начала фазы бурного роста. Иная картина наблюдается для иммунного сорта. Особенности изменений в содержании аминокислот здесь вырисовываются лишь в последние сроки — в фазе закладки бутонов. При вступлении растений в эту фазу почти все аминокислоты (за исключением гамма-аминомасляной кислоты и серина) активно включаются в метаболизм и интенсивно расходуются.

Изучался аминокислотный состав здоровых и пораженных сеянцев в фазе «ушек» восприимчивого сорта Остролист 2747 на фоне искусственного заражения. Для сравнения испытывались также иммунный и устойчивый сорта (Хикс и Остролист 125). Как показывают полученные данные (табл.), в данной фазе иммунный сорт отличается большим содержанием аргинина, тирозина, триптофана, валина и наименьшим содержанием гамма-аминомасляной кислоты и аспарагина. Суммарное содержание всех аминокислот (табл.) выше у иммунного сорта Хикс, затем у здоровых растений восприимчивого сорта Остролист 2747. В пораженных растениях сумма свободных аминокислот уменьшается за счет снижения количества серина (683—250 мг%), тирозина и триптофана (13669—9501), аргинина и гамма-аминомасляной кислоты. Количество лизина, лейцинов и пролина, наоборот, увеличивается. Изменения содержания остальных аминокислот незначительны. Сумма аминокислот устойчивого сорта Остролист 125 ниже по сравнению как с иммунным, так и с восприимчивым сортами.

Результаты наших исследований показывают, что содержание аминокислот при инфекции претерпевает значительные изменения. При этом темп этих изменений в значительной мере обусловлен как генетическими особенностями растения-хозяина, так и степенью его поражения.

Обобщая полученные результаты, можно сказать, что среди отдельных компонентов наиболее существенному колебанию подвергалось со-



Таблица  
Содержание аминокислот в здоровых и пораженных проростках различных сортов при искусственном заражении (фаза „ушек“)

Аминокислоты	В мг % общего азота			
	Остролист 2747		Остролист 125	Хикс
	здоровые	поражен- ные		
Альфа-аланин	1800,4	1833,7	383,4	866,8
Аргинин	600,1	466,8	500,1	716,8
Аспарагин	1717,0	1833,7	383,4	250,1
Аспарагиновая кислота	1417,0	1266,9	666,8	1050,2
Глютаминовая кислота	900,2	800,2	125,0	266,7
Гамма-аминомасляная кислота	1033,5	633,5	500,1	283,4
Валин	333,4	308,4	356,7	453,3
Лейцины	233,4	350,1	700,1	550,1
Лизин	558,4	800,2	150,0	233,4
Пролин	2466,8	3532,0	1333,6	1400,4
Серин	683,5	250,1	150,0	216,7
Треонин	633,5	716,8	33,3	116,7
Тирозин—Триптофан	13669,4	9501,9	16167,9	20170,7
Цистин—Цистенин	—	666,8	183,4	266,7
Сумма	26043	22959	21633	26838

держание аргинина. Листья иммунного сорта Хикс содержат в 2—3 раза больше аргинина. Во все сроки опыта по содержанию лизина и валина как устойчивый, так и иммунный сорта превосходят восприимчивый. Можно предположить, что существует определенная корреляция между их содержанием и степенью восприимчивости сорта к болезни.

Таким образом, пероноспороз табака ведет к значительным сдвигам в процессах обмена аминокислот. обстоятельное изучение этих сдвигов, а также проведение сравнительных биохимических анализов у иммунных, устойчивых и восприимчивых к болезни сортов может оказать значительное содействие в селекционной работе при выведении устойчивых к пероноспорозу сортов табака.

Лаборатория биохимии и физиологии  
растений НИИ земледелия МСХ  
АрмССР

Поступило 11.IX 1973 г.

Մ. Մ. ՇԱԼՉՅԱՆ, Է. Ս. ՀԱՎՈՒՆՉՅԱՆ

ՄԵԱԿՈՏԻ ՓԵՐՈՆՈՍՊՈՐՈԶ ՀԻՎԱՆԻՌԻԹՅԱՆ ՆԿԱՏՄԱՄԲ ՎԱՐԱԿՎՈՂ,  
ԳԻՄԱՑԿՈՒՆ ԵՎ ԻՄՈՒՆ ՍՈՐՏԵՐԻ ՏԵՐԵՎՆԵՐՈՒՄ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ԿԱԶՄԻ  
ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Բույսի զարգացման ընթացքում, հիվանդության նկատմամբ տարբեր դիմացկանություն ունեցող սորտերի մոտ, առանձին ամինաթթուների պարու-



նակությունը, ինչպես և նրանց գոմարը փոխվում են միանգամայն յուրօրինակ: Վարակվող սորտի համար բնորոշ է առանձին ամինաթթուների քանակում աննշան տատանումներ, հակառակ պատկերն է նկատվում իմուն և դիմացկուն սորտերի մոտ:

Հիզինի, վալինի, արգինինի պարունակությամբ, փորձի բոլոր ժամկետներում, իմուն և դիմացկուն սորտերը գերազանցում են վարակվող սորտին: Բոլոր ամինաթթուներից առանձնահատուկ տատանումների է ենթարկվում արգինինի պարունակությունը:

Արհեստական վարակման ժամանակ ազատ ամինաթթուների պարունակությունը նվազում է սերինի, տիրոզինի, տրիպտոֆանի, արգինինի և գամմա-ամինակարազաթթվի պարունակության նվազման շնորհիվ:

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ավսնճյան Յ. Ս., Ազաթյան Ս. Ա., Ալեքսանյան Գ. Ա., Շալճյան Մ. Մ. ДАН АрмССР, 35, 223, 1962
2. Ավսնճյան Յ. Ս., Շալճյան Մ. Մ. Изв. с.-х. наук МСХ АрмССР, 4, 45, 1967.
3. Байлов Д., Еднова-Кандова А. Тезисы докл. II Всесоюз. совещ. по иммунитету с.-х. растений. Картя Молдовен яскэ, Кишинев. 102, 1965.
4. Липсиц Д. В. Сб. Биохим. основы защиты раст., М., 89, 1966.
5. Мальцева К. М., Зельцер С. Ш., Герасимова В. Ф. С.-х. биол., т. II, 3, 1967.
6. Пересыпкин В. Ф., Лесовой М. П. Химия в сельском хозяйстве, т. IV, 7, 15, 1966.
7. Рубин Б. Х., Иеанова Т. М. Сб. Биохимия плодов и овощей, 5, 113—132, 1959.
8. Berbec J., Ocrosiowa A., Drzas E. Roczn. nauk Poln., 92, 1, 53, 1966.
9. Child J. J., Fathergill P. G. J. Sci. Food and Agric., 18, 1, 3, 1967.
10. Farkas L., Kiraly L. Plant Physiol., 14, 1961.
11. Hashem M., Abdel-Rehim M. A. Flora, A 158, 2, 265, 1967.
12. Hrabetova E., Tupy L. J. Chromatogr., 3, 2, 199, 1960.
13. Kaspers H. Biol. Zbl., 78, 461, 1959.
14. Possingham J. V. Austr. J. Biol. Sci., 10, 1, 40, 1957.
15. Rohringer R. Phytopathol., Z., 29, 1957.
16. Shaw M. Proc. 4th Intern. Congr. on Crop Production. Hamburg, 1959, V, 1, 75.