

О. Н. ЗАРГАРЯН, З. В. МАРШАВИНА, Л. К. АСЛАНЯНЦ, Г. С. ШИРИНЯН

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЫРАЩЕННЫХ В СТЕРИЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ ТКАНЕЙ И КЛЕТОК НЕКОТОРЫХ ЭФИРОМАСЛИЧНЫХ РАСТЕНИЙ

1. Аминокислотный состав выращенных в темноте каллусных тканей герани, ириса и руты.

В сравнительном аспекте изучался состав белковых и свободных аминокислот интактных и изолированных тканей (каллусов) листа герани, ириса и руты. Установлено, что изолированные ткани характеризуются заметной метаболической активностью; выявлена их специфичность в биосинтезе некоторых аминокислот.

В Институте микробиологии АН АрмССР в последние годы ведутся работы по искусственному выращиванию изолированных тканей и клеток некоторых эфиромасличных растений в условиях, аналогичных тем, в которых культивируются микроорганизмы, с целью изучения возможностей получения эфирных масел [3].

В задачу настоящей работы входило сравнительное определение в изолированно выращенных в темноте тканях и интактных листьях указанных растений содержания некоторых азотистых соединений, в том числе белковых и свободных аминокислот. Проведение данной работы представляло также интерес в связи с тем, что в литературе имеются сведения [2, 5—9] о составе этих веществ в каллусных тканях корней некоторых бобовых и злаковых растений, но отсутствуют аналогичные данные по эфиромасличным растениям.

Материал и методика. В опытах использовались 20—25-дневные ткани герани (*Pelargonium roseum*), ириса (*Iris sibirica*) и руты (*Ruta graveolens*), полученные из листьев указанных растений и выращенные в темноте при температуре 27° на среде МВ-5, согласно описанному ранее методу [3]. Для сравнения анализировались также листья целых растений.

Свободные аминокислоты определялись методом бумажной хроматографии. Для этого растертый на холоду материал экстрагировался 80%-ым кипящим этанолом, через 24 часа центрифугировался при 3000 об/мин, надосадочная жидкость выпаривалась досуха, осадок растворялся в 1 мл 10%-го изопропанола.

Белковые аминокислоты определялись в образцах после гидролиза их в 6N HCl при 120° в течение 20 часов. Гидролизат затем выпаривался при температуре 40° под вакуумом, промывался трехкратно дистиллированной водой, вновь выпаривался досуха, растворялся в 2 мл 10%-го изопропанола и наносился на хроматограмму [1].

Общий азот определялся микрометодом Кьельдаля, аминный азот—по методу Хардинга и Мак-Лина [4].

Приведенные в работе данные являются средними из 7—8 определений.

Результаты и обсуждение. Данные, представленные на рис. 1 и табл. 1, показывают, что каллусные ткани при культивировании их на твердой питательной среде синтезируют широкий набор аминокислот,

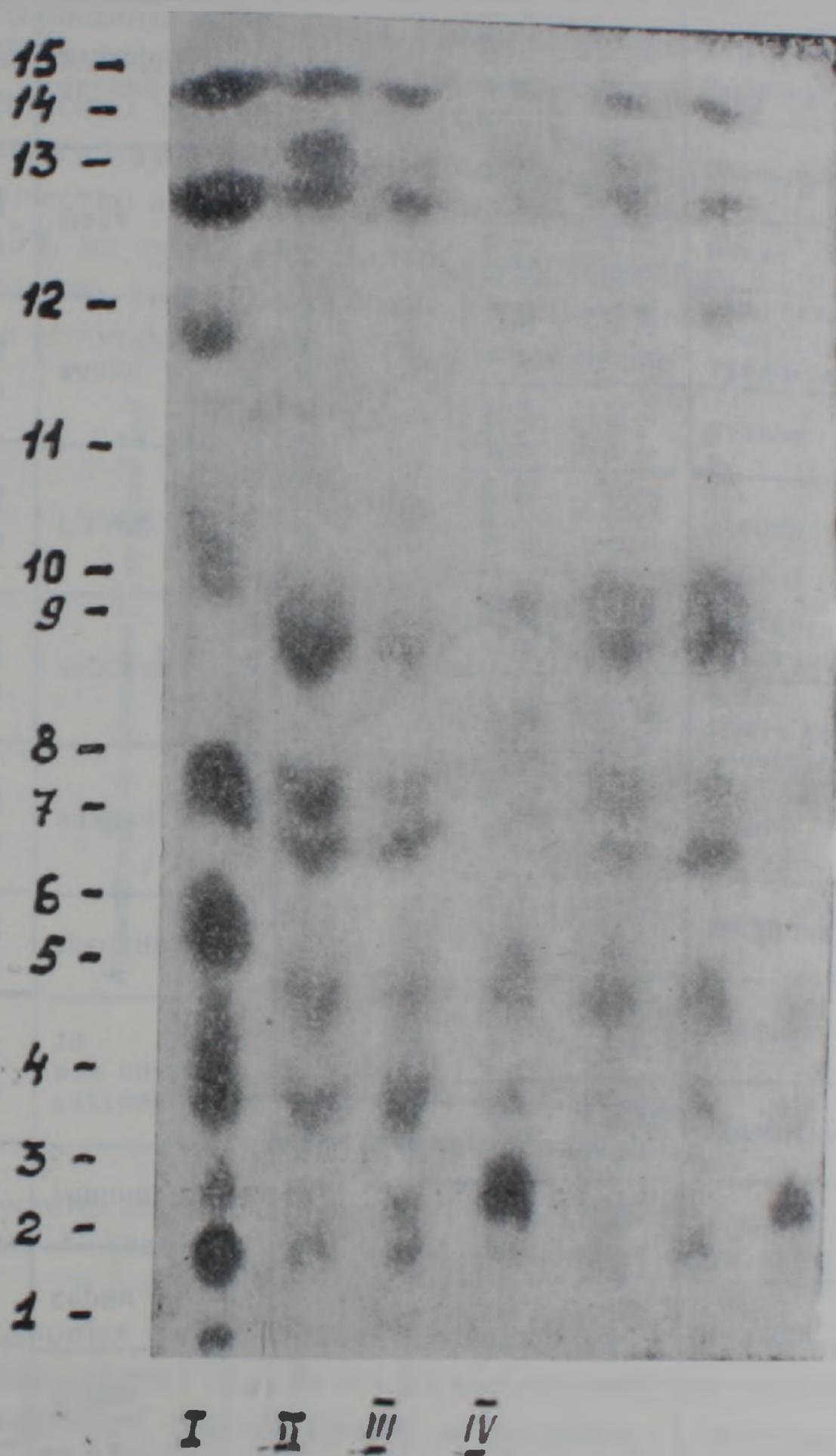


Рис. 1. Хроматограмма аминокислотного состава каллусных тканей герани, ириса и руты. Растворитель: бутанол—уксусная кислота—вода (4:1:1) I—аминокислоты — свидетели, II—каллус герани, III—каллус ириса, IV—каллус руты. 1—цистеин, 2—лизин, 3—аспарагин, 4—глутамин, 5—аспарагиновая кислота, 6—глицин, 7—глутаминовая кислота, 8—треонин, 9—аланин, 10—тирозин, 11—гамма-аминомасляная кислота, 12—метионин, 13—валин, 14—фенилаланин, 15—лейцин+изолейцин.

причем в составе свободных аминокислот качественных различий между тремя культурами и при сравнении их с целыми листьями не наблюдалось. Данные таблицы в то же время с очевидностью показывают, что

Таблица 1

Состав свободных аминокислот каллусной ткани и целого листа герани, ириса, руты

Объект		Аминокислоты, % на сухой вес																
		цистеин	лизин	аспарагин	глутамин	гистидин	серин	аспарагиновая кислота	глутаминовая кислота	треонин	аланин	гамма-аминомасляная кислота	валин	метионин	фенилаланин	лейцин+изолейцин	глицин	тирозин
Каллусная ткань	Герани	0,24	0,29	1,17	0,33	следы	0,11	0,62	0,66	0,33	1,38	0,20	0,44	0,30	0,30	0,44	следы	0,45
	Ириса	0,24	0,29	1,71	0,24	0,32	0,35	0,58	0,21	0,24	0,87	0,62	0,44	0,43	0,12	0,54	следы	0,15
	Руты	0,16	0,42	2,10	0,59	следы	0,26	0,41	0,41	0,21	0,21	0,18	0,18	0,25	0,18	0,19	0,42	0,37
Целый лист	Герани	следы	следы	следы	следы	следы	0,07	0,07	0,07	0,05	0,14	0,27	0,11	следы	0,15	0,04	0,12	следы
	Ириса	следы	следы	следы	следы	следы	следы	0,05	0,04	следы	0,07	0,02	0,01	следы	0,08	0,01	0,07	следы

Из-за отсутствия материала листья руты не анализировались.

Таблица 2

Состав белковых аминокислот каллусной ткани и целого листа герани, ириса, руты

Объект		Аминокислоты, % на сухой вес													
		цистеин	лизин	серин	глицин	глутаминовая кислота	треонин	аланин	тирозин	ГАМК	валин	фала	лейцин+изолейцин	аспарагиновая кислота	гистидин
Каллусная ткань	Герани	0,34	1,26	0,86	0,64	0,71	0,69	1,79	0,82	0,80	1,31	0,38	1,38	1,19	+
	Ириса	0,35	0,64	0,65	0,69	0,65	0,34	1,14	0,48	0,22	0,61	0,42	0,87	1,20	+++
	Руты	0,14	0,61	0,23	0,73	0,42	0,45	1,60	0,61	0,44	0,39	0,38	0,45	0,55	+
Целый лист	Герани	0,56	0,29	0,75	0,90	0,44	0,17	0,70	0,48	0,14	0,47	0,42	0,44	0,61	0,20
	Ириса	0,25	0,32	0,14	0,51	0,1	0,07	0,65	0,07	0,14	0,35	0,45	0,47	0,39	0,1

в целых листьях содержание аминокислот значительно ниже, чем в каллусных культурах. Следует отметить, что изолированные ткани листа герани, ириса и руты накапливают в запасном фонде значительное количество аспарагина, аланина и аспарагиновой кислоты. Данные по повышенному содержанию аспарагина в изолированных тканях эфирноносных растений согласуются также с таковыми по составу свободных аминокислот каллусных тканей корней люцерны [5].

Проведенные нами специальные опыты показали, что (рис. 2) наибольшее количество аспарагина накапливается к 20-му дню культивирования—2—2,5% на сухой вес. Дальнейшее культивирование приводит к снижению его, что, видимо, связано с использованием тканью аспарагина в качестве источника азота, когда исчерпан азот среды.

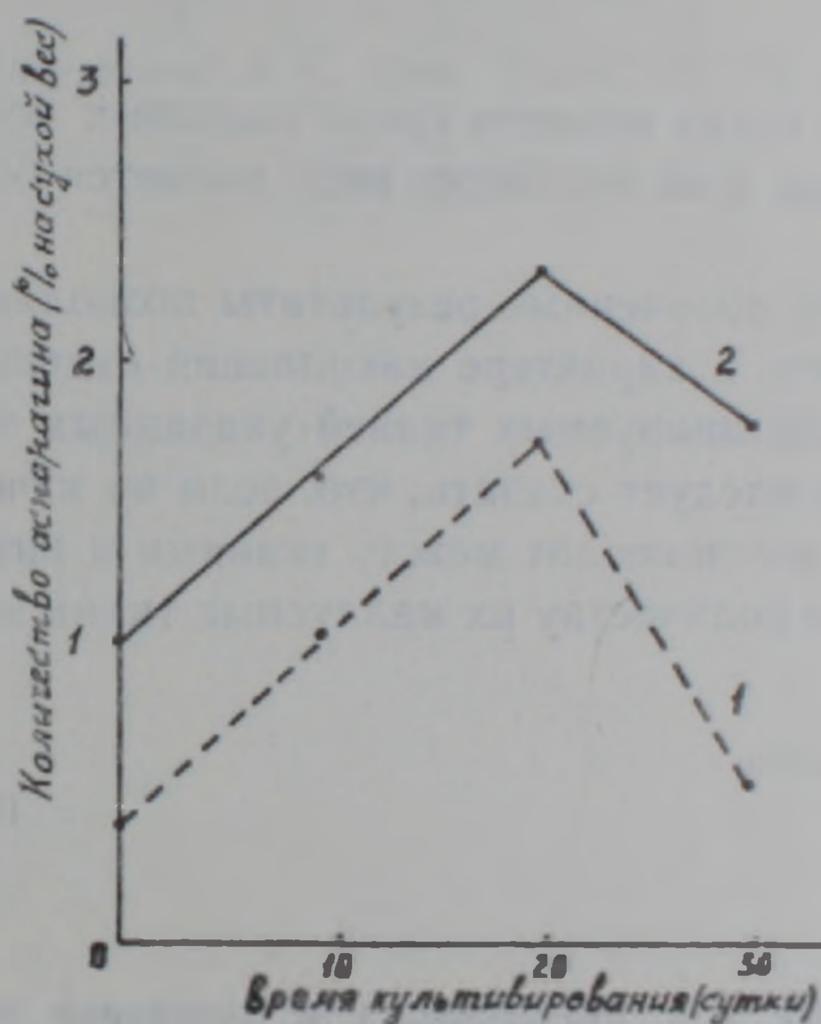


Рис. 2. Биосинтез аспарагина в динамике роста каллусных тканей руты и ириса 1—каллусная ткань ириса, 2—каллусная ткань руты.

Состав белковых аминокислот приведен в табл. 2. Как видно из таблицы, в гидролизатах белков изучаемых тканей нам удалось выявить около 14 аминокислот, причем среди исследуемых тканевых культур эфирноносных растений по аминокислотному составу наиболее богатым оказался белок каллусной ткани герани. Количество лизина, серина, треонина, гамма-аминомасляной кислоты, валина, лейцина+изолейцина, аспарагиновой кислоты в белке герани намного больше по сравнению с другими тканевыми культурами. Результаты сравнительного анализа состава белка тканевых культур и интактного листа, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что по общему количеству белка выделяется каллус герани и, несмотря на низкое содержание отдельных аминокислот, богата белком также ткань руты.

Сравнение данных по содержанию общего и аминного азота также говорит в пользу изолированно культивируемых тканей.

Таблица 3

Содержание белка, общего и аминного азота в каллусной ткани и целом листе герани, ириса, руты

Объект	% на сухой вес			Сухой вес
	общий азот	аминный азот	белок	
Каллус герани	3,8	0,54	23,75	3,6
Каллус ириса	2,9	0,58	18,12	7,36
Лист герани	2,54	0,32	15,9	12,6
Лист ириса	2,06	0,25	12,8	16
Каллус руты	4,3	0,38	26,87	3,7

По количеству сухих веществ среди тканевых культур выделяется ткань ириса, которая и по внешнему виду является более компактной и менее оводненной.

Таким образом, полученные результаты позволяют отметить некоторую специфичность в характере накопления отдельных аминокислот у изолированно культивируемых тканей указанных эфирноносных растений. Одновременно следует сказать, что, если по качественному содержанию свободных аминокислот между тканями и интактными листьями различий нет, то по количеству их каллусные ткани значительно превосходят листья.

Институт микробиологии
АН АрмССР

Поступило 15.I 1975 г.

Հ. Ն. ԶԱՐԳԱՐՅԱՆ, Զ. Վ. ՄԱՐՇԱՎԻՆԱ, Լ. Կ. ԱՍԼԱՆՅԱՆՑ, Կ. Ս. ՇԻՐԻՆՅԱՆ

ՄԻ ՔԱՆԻ ԵՔԵՐԱՅՈՒՂԱՅԻՆ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՍՏԵՐԻԼ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ
ԱՃԵՑՎԱԾ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ԵՎ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ
ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

1. Մթուրջյան մեջ պինդ սննդամիջավայրի վրա անեցված խոռոչենու, իրիսի և ռուտայի կալուսային հյուսվածքների ամինաթթվային կազմը:

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է կալուսային բույսերի հյուսվածքների և տերևների ազատ և սպիտակուցային ամինաթթուների կազմը:

Պարզվել է, որ ամինաթթվային կազմով հյուսվածքների և տերևների միջև դոյություն ունեն միայն քանակական տարբերություններ: Կալուսային հյուսվածքները սինթեզում և կուտակում են ավելի շատ ամինաթթուներ քան տերևները: Ուսումնասիրված կալուսային հյուսվածքները աչքի են ընկնում մետաբոլիկ և կենսասինթետիկ ակտիվությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Белозерский А. Н., Проскуряков Н. Н. Практическое руководство по биохимии растений. М., 1951.
2. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М., 1964.
3. Маршавина З. В., Севрук О. Г., Щербакова Е. Н., Тоникян Э. С., Заргарян О. Н. Биологический журнал Армении, 26, 6, 13, 1973.
4. Орехович В. П. Аналитические методы белковой химии. М., 1963.
5. Смирнов А. М. Рост и метаболизм изолированных корней в стерильной культуре. М., 1970.
6. Street H. E., Melhuish F. M. Proc. Internat. Conf. Plant Tissue Culture, p. 25, 1965.
7. Gamborg O. L. and Finlanson A. J. Can. J. Bot., 47, 1857, 1969.
8. Yatazawa M., Furuhashi K., Kurihara N. and Ohnishi Y. Soil Sci. Plant Nutr. 14, 85, 1968.
9. Warick R. P. and Hilgebrandt A. C. Plant Physiol., 41, 573, 1966.