

БИОХИМИЯ

УДК 581—19

А. Д. Дограмаджян, С. А. Марутян, Э. В. Авакян

К вопросу олигосахаридов виноградной лозы

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР М. Х. Чайлахяном 22/III 1968)

Появление олигосахаридов в период осенне-зимнего покоя у древесных пород в последнее десятилетие привлекает внимание исследователей в связи с изучением проблемы морозостойкости растений. В побегах винограда синтез этих галактозосодержащих олигосахаридов (рафинозы и стахиозы) усиливается также по мере падения температуры. Это наблюдается как на свету—в естественных условиях, так и в темноте—в опытах с искусственным промораживанием побегов в холодильнике (¹).

Факт усиления синтеза олигосахаридов в побегах винограда независимо от процесса фотосинтеза в условиях пониженного уровня дыхания при отрицательных температурах хотя сам по себе важен и интересен, но до сих пор не объяснен и мало изучен. Представляется вполне вероятным, что биосинтез олигосахаридов происходит с участием галактолипидов (²⁻⁵), которые считаются основным резервным углеводом хлоропластов. Они находятся в равновесии с комплексом УДФ-Д-галактозы, от которой (как это показано на листьях) галактоза при помощи ферментных систем хлоропластов переносится на эндогенные акцепторы, являющиеся донорами галактозы при галактолизации сахарозы.

Для решения вопроса, связано ли поведение олигосахаридов и галактолипидов с белковым обменом и процессом окислительного фосфорилирования как основного поставщика энергии в холодный период были поставлены 2 серии опытов. В первой серии побеги винограда погружали на 48 часов в раствор 2—4 динитрофенола (0,2%, рН=6,90) для ингибции процесса окислительного фосфорилирования, во второй серии опытов—в раствор хлорамфеникола (0,1%, рН=6,75), ингибирующий белковый обмен. Контроль погружали в воду (15°C, рН=6,9).

После высушивания побегов до первоначального веса образцы подвергали 3 разным режимам промораживания в холодильнике по следующим вариантам: 1) контроль—в естественных условиях (+10°); 2) 15 дней закалка (0°); 3) после 15 дней закалки при 0° постепенное понижение температуры до—18° и 4 дня побеги выдерживались при этой

температуре (0—18°); 4) без предварительной закалки побеги были подвергнуты 4-дневному воздействию—18° постепенным понижением температуры (—18°).

Во всех образцах определяли количество галактолипидов и олигосахаридов. Предварительно изучили взаимосвязь галактолипидов и олигосахаридов в естественных условиях зимовки в побегах морозостойкого сорта Русский Конкорд и неморозостойкого—Спитак Араксени.

Результаты исследований в природных условиях. Как видно на рис. 1, резкие колебания температуры независимо от того, оно в сфере положительных или отрицательных температур приводит к росту галактолипидов. При сравнительно длительном воздействии более или менее по-

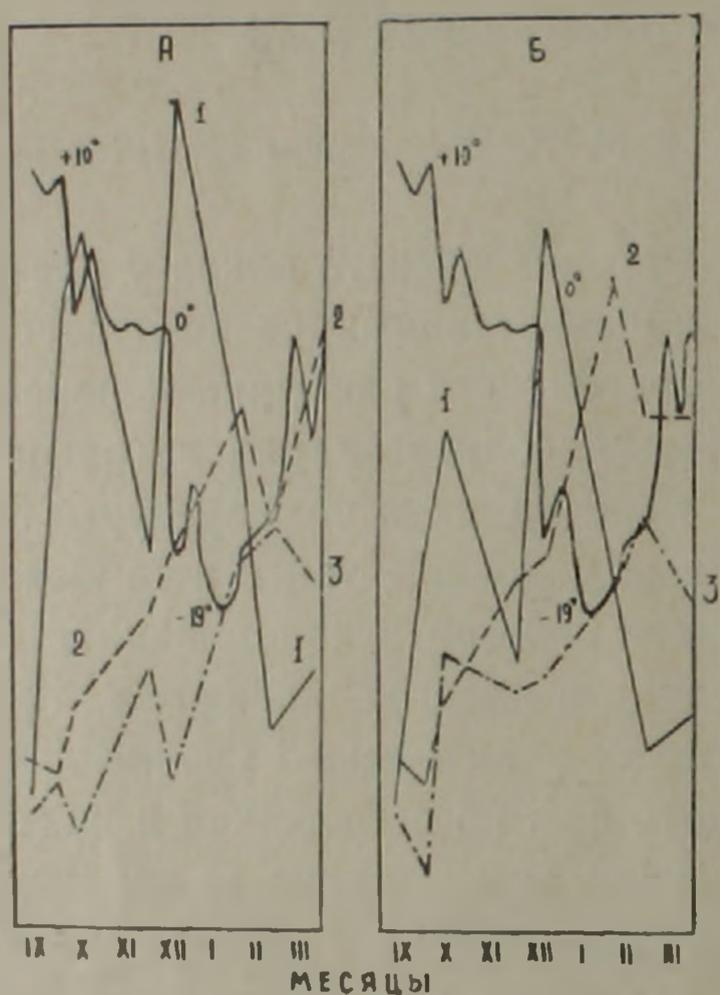


Рис. 1. Динамика галактолипидов (1), рафинозы (2) и стахиозы (3) в побегах винограда в природных условиях.

А — Спитак Араксени; Б — Русский Конкорд.

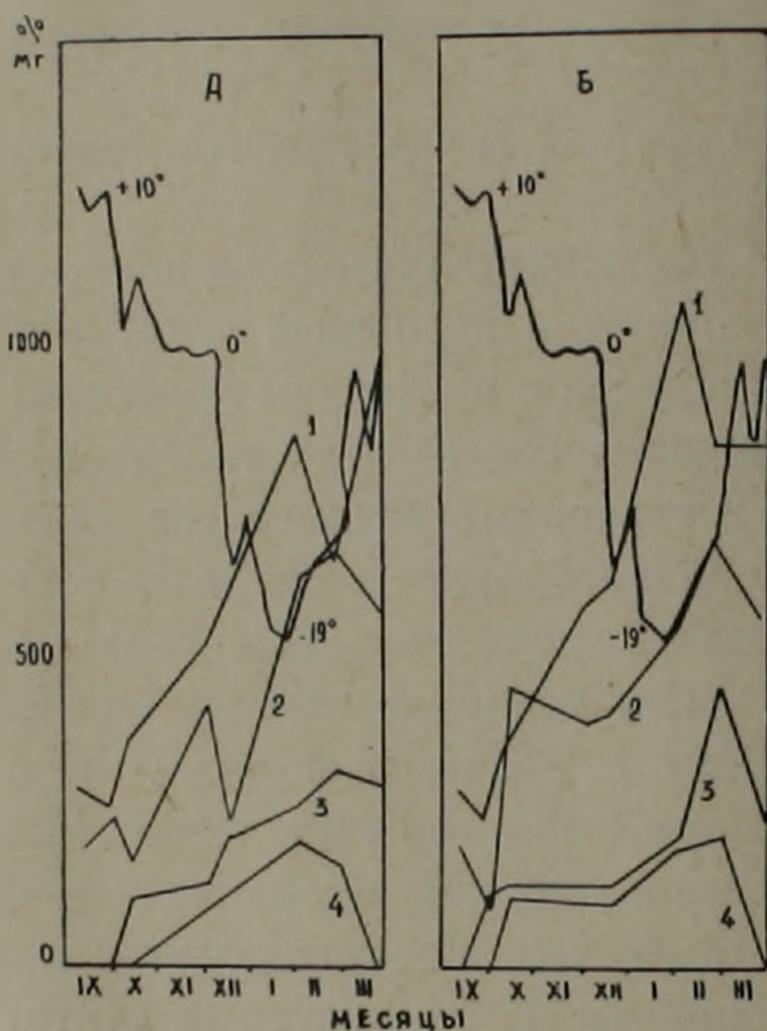


Рис. 2. Количественные изменения новых, еще неидентифицированных кетосахаров (3, 4) в побегах винограда на фоне рафинозы (1) и стахиозы (2).

А — Спитак Араксени; Б — Русский Конкорд.

стоянных температур наблюдается их расхождение. Обычно на резкие смены температуры растение отвечает вспышкой дыхания. Возможно, что энергия, вырабатываемая при этих вспышках, способствует накоплению галактолипидов. Характер кривых галактолипидов у обоих изученных сортов одинаков. Только у неморозостойкого сорта эти колебания выражены более резко и максимальные точки галактолипидов у них находятся на более высоком уровне, чем у морозостойкого сорта.

Кривые стахиозы в общей сложности имеют обратную зависимость от галактолипидов и отражают ритм температурных колебаний. Однако эта взаимосвязь у морозостойкого сорта Русский Конкорд проявляется только после наступления холодов, а до отрицательных температур ритм

изменения галактолипидов и стахиозы имеет одинаковое направление. Следовательно, поведение стахиозы у обоих сортов в этот период индивидуальное. В литературе господствует мнение о том, что рафиноза является первым продуктом на пути синтеза галактозосодержащих олигосахаридов, поскольку ее появление в побегах предшествует стахиозе. Интересно отметить, что наблюдаемый нами обратный ритм между кривыми галактолипидов и стахиозы позволяет думать о возможности прямой галактолизаии сахарозы сразу до образования стахиозы путем расходования галактолипидов. Это предположение становится более убедительным, если отметить, что в побегах винограда обнаруживается также два неидентифицированных кетосоединения (рис. 2) сравнительно с меньшим молекулярным весом, которые в общих чертах находятся в ритме с кривой стахиозы и, видимо, имеют отношение к процессам ее синтеза.

Рафиноза имеет характер неуклонно возрастающей кривой и не откликается на ритм галактолипидов и стахиозы. Она может образовываться как путем галактолизаии сахарозы, так и на пути расщепления стахиозы альфа-галактозидазой (6).

Результаты после обработки побегов ингибиторами. а) Хлорамфеникол (ХФ). Как видно на рис. 3, у необработанных побегов морозостойкого сорта Русский Конкорд за время воздействия температур,

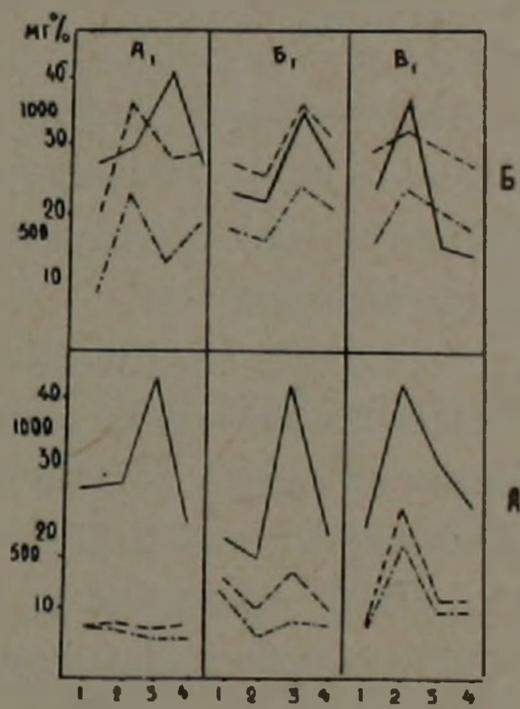


Рис. 3. Взаимосвязь галактолипидов (—) и олигосахаридов (---) в побегах винограда до и после обработки ингибиторами в условиях искусственной закалки и промораживания, А — Спитак Араксени; Б — Русский Конкорд. Варианты обработки: А₁ — контроль (без обработки); Б₁ — хлорамфеникол; В₁ — 2—4 динитрофенол. Температурные режимы: 1. +10°C, 2. 0°, 3. 0—18°, 4. —18°.

близких к закалочным (15 дней 0°), количество олигосахаридов почти удваивается, а при последующем падении до —18° происходит их использование.

У обработанных ХФ побегов картина полностью меняется—приостанавливается синтез олигосахаридов при 0° и их расходование при 0—18°. Нарушается обратная взаимозависимость олигосахаридов и галактолипидов.

Отсюда видно, что синтез олигосахаридов больше связан с синтезом белка, ибо при режиме 0° , когда опасности для холодочувствительной фракции белков пока нет, синтез олигосахаридов нарушается при нарушении синтетических процессов белков в хлоропластах от обработки побегов ХФ (7).

Нужно отметить, что вообще в побегах неморозостойкого сорта количество олигосахаридов намного меньше, чем морозостойкого сорта, хотя и количество галактолипидов в большинстве случаев даже больше. Это говорит о том, что у неморозостойкого сорта использование галактолипидов на синтез олигосахаридов ограничивается, видимо, вследствие низкой активности соответствующих ферментных систем. Одновременно у этого сорта от прямого воздействия сразу температурой -18° происходит падение количества галактолипидов (в необработанных побегах). Такая реакция от холодного воздействия, по всей вероятности, связана с влиянием сравнительно предельной отрицательной температуры для сортов европейского вида (-18°). Что касается северного сорта Русский Конкорд, то у него диапазон температур ферментативных реакций значительно шире. Таким образом, ХФ оказывает прямое воздействие на поведение олигосахаридов, в то время как динамика галактолипидов почти остается той же и кажется не подвергается действию этого ингибитора.

б) 2—4 динитрофенол (ДНФ). В опытах с необработанными побегами наибольшее накопление галактолипидов отмечается при режиме $0-18^{\circ}$. После обработки побегов ДНФ синтез галактолипидов перемещается в более «теплую» зону (0°) и наблюдается параллелизм между характерами кривых олигосахаридов и галактолипидов, чего не было у необработанных контрольных побегов.

Необходимо отметить, что ДНФ как бы анулирует эффект закалки, ибо поведение галактолипидов на четырехдневное воздействие температуры -18° совершенно одинаково как в случае предварительной пятнадцатидневной закалки побегов при 0° , так и без нее.

Можно полагать, что ДНФ парализует синтез галактолипидов вследствие разобщения окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи, которая в этот период является, видимо, основным источником макро-энергии на фоне низкого уровня дыхания в условиях отрицательных температур (8, 9). Характер кривых, полученных после обработки ДНФ (рис. 3 и 4), свидетельствует одновременно о более превалирующей доле окислительного фосфорилирования как источника энергии у морозостойкого сорта в период критических температур.

Поскольку ДНФ не влияет на субстратное фосфорилирование, то удалось выяснить, что в зависимости от температурного режима субстратное фосфорилирование при ингибции окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи в какой-то степени компенсирует ее (10). Так было у обработанных ДНФ побегов при 0° . При действии низких температур -18° (в опытах с ДНФ) уже подавляются оба источника макро-энергии и приостанавливается синтез галактолипидов. Значит в

растениях в период закалки происходит перестраивание путей добычи энергии.

Таким образом, проведенные опыты в некоторой степени проясняют вопрос образования олигосахаридов как при встрече растения с холо-



Рис. 4. Диаграмма изменчивости галактолипидов (а) и олигосахаридов (б, в) неморозостойкого (А) и морозостойкого (Б) сортов винограда при разных температурных режимах.

дом, так и при положительных температурах. При этом установлена обратная взаимосвязь галактолипидов с стахиозой в период осенне-зимнего покоя в побегах у разных по морозостойкости сортов винограда на материнских растениях и в изолированных побегах при искусственной закалке и промораживании.

Выявлена зависимость олигосахаридов от белкового обмена и галактолипидов от окислительного фосфорилирования. Отмечается различие в поведении морозостойкого и неморозостойкого сортов винограда.

Институт виноградарства, виноделия
и плодоводства МСХ Армянской ССР

Հ. Կ. ԴՈՂՐԱՄԱԶՅԱՆ, Ս. Ա. ՄԱՐՈՒԹՅԱՆ, Է. Վ. ԱՎԱԳՅԱՆ

Խաղողի վազի օլիգոսախարիդների հարցի շուրջը

Մեր կողմից ուսումնասիրվել են խաղողի ցրտադիմացկուն (Ռուսկի Կոնկորդ) և ոչ ցրտադիմացկուն (Սպիտակ Արաքսենի) սորտերի շվերում օլիգոսախարիդների առաջացումը և գալակտոլիպիդների դինամիկան ցրտի ազդեցության տակ ինչպես բնական պայմաններում մայրական բույսի վրա, այնպես էլ վազից անջատված շվերում՝ արհեստական ցրտահարման պայմաններում (մթության մեջ)։ Նմուշների մի մասը ենթարկվել է ինհիբիտորներով մշակման։ Շվերի մի մասը մխրճվել է 0,1% քլորամֆենիկոլի լուծույթի մեջ (рН 6,75), մյուս մասը 0,2% 2—4 դինիտրիֆենոլի լուծույթի մեջ (рН 6,9), օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման պրոցեսը կանխելու համար։ Ստուգիչ փորձը կատարվել է շվերը ջրի մեջ մխրճելով 15°-ի տակ։

Փորձերից պարզվել է, որ ջերմաստիճանի արագ փոփոխությունը (դրական և բացասական

չերմաստիճանների պայմաններում) զուգորդվում է գալակտոլիպիդների աճով: Համեմատաբար կալուն չերմաստիճանի ազդեցության տակ նրանք ծախսվում են և ստախիոզայի քանակական տատանումները նրանց նկատմամբ գտնվում են հակառակ կապի մեջ:

Մինչդեռ բնական պայմաններում ուստի հարաճուն կորագիծ և չի հետեւում չերմաստիճանային ութմին: Գալակտոլիպիդների և ստախիոզայի վարքագծի միջև հայտնաբերված հակառակ կապը ենթադրել է տալիս, որ ի լրացումն մինչև այժմ գոյություն ունեցող այն կարծիքի, թե ուստիոզայի սինթեզը տեղի է ունենում սախարոզայի գալակտոլիզացումով, ըստ ևրևույթին գոյություն ունի նաև մի երկրորդ ճանապարհ. նախ սախարոզայի առավել գալակտոլիզացմամբ մի անգամից սինթեզվում է սախարոզա, որի քայքայումից ալֆա-գալակտոզիդազայով գոյանում է ուստիոզա:

Ինհիբիտորներով մշակելուց հետո այդ օրինաչափությունները խախտվում են: Քլորամֆենիկոլը ազդելով քլորոպլաստների որոշ սպիտակուցների վրա արգելակում է օլիգոսախարիդների առաջացումը: Գալակտոլիպիդների վարքագիծը փոփոխվում է շվերը 2—4 դինիտրոֆենոլով մշակելիս, որը արգելակում է օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման պրոցեսը և դրանով իսկ խախտում բույսի էներգետիկ բալանսը:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

- ¹ С. А. Марутян, „Биологический журнал Армении“, № 1, 1968. ² E. Nenfeld, F. Hall, Claraw, Bioch. Bioph. Res. Commonw., 14, № 6, 503—508 (1964). ³ P. S. Sast-ry, M. Kates, Bioch. 3, № 9, 1280—1287 (1964). ⁴ A. A. Benson, J. F. G. M. Wintermans, R. Wiser, Pl. Phys. v. 34, № 3 (1959). ⁵ D. Rast, A. G. McInnes, A. C. Neish, Pl. Phys. v. 34, № 3, 315—317 (1959). ⁶ Ahmed Moin Uddin F. S. Cook, Can. J. Bioch. 42, № 56, 605—612 (1964). ⁷ О. П. Осипова, М. К. Николаева, Х. Я. Хейн, Физиология растений, т. 14, вып. 2, 210—231, 1967. ⁸ П. А. Власюк, Д. Ф. Проценко, С. И. Колоша, ДАН СССР, 169, № 6 (1966). ⁹ Г. Д. Боржовская, М. А. Храброва, Физиология растений, 13, № 4 (1966). ¹⁰ S. Lips, H. Brale, B. Jacob, Pl. Phys, 41, № 5, 797—802 (1966).