

МИКРОБИОЛОГИЯ

Член-корреспондент АН СССР В. Л. РЫЖКОВ и О. С. ГОРОДСКАЯ

О ФОРМАХ ФОСФОРА В ЛИСТЬЯХ ЗДОРОВОГО, МОЗАИЧНОГО И ГОЛОДАЮЩЕГО ТАБАКА

Обмену фосфора при вирусных заболеваниях растений посвящено очень мало работ. Имеются данные о формах фосфора при закукливании овса ⁽¹⁾, о белковом фосфоре в водном экстракте из листьев здорового и мозаичного табака ⁽²⁾. Недавно появилось сообщение об общем фосфоре при мозаичной болезни табака ⁽³⁾. В. Л. Рыжков и М. Н. Воробьева ⁽⁴⁾, применив классический метод В. К. Залесского ⁽⁵⁾, исследовали более подробно формы фосфора при мозаичной болезни; при этом им удалось показать, что при рассматриваемой болезни количество общего и белкового фосфора заметно не возрастает, в то время как количество белкового азота резко возрастает, что дало право говорить о качественном изменении белков при заболевании. Позднее мы привели предварительные данные об общем фосфоре при ряде вирусных заболеваний и показали, что при заболеваниях типа желтух количество общего фосфора в растениях уменьшается ⁽⁶⁾.

В большинстве исследований, посвященных нуклеиновому обмену животных, в последнее время используется метод фракционирования, основанный на удалении кислотно-растворимого фосфора раствором CCl_3COOH , липоидного фосфора — смесью спирта с эфиром и на извлечении нуклеопротеидов раствором едкой щелочи. Фракционирование фосфопротеидов, рибозной и дезоксирибозной нуклеиновой кислоты достигается тем, что фосфор первых отщепляется под воздействием щелочи в форме минерального, рибозная нуклеиновая кислота деполимеризуется под влиянием инкубации со щелочью и остается в растворе после осаждения кислотами дезоксирибозной нуклеиновой кислоты, которая при обработке щелочью не деполимеризуется ⁽⁷⁾.

Так как уже В. К. Залесский ⁽⁵⁾ показал, что нуклеопротеиды полностью извлекаются из растений щелочным раствором, то мы решили описанный выше метод применить при решении интересовавшего нас вопроса. Недавно для определения фосфора нуклеиновых кислот в растительном материале было предложено экстрагирование их 12,5% NaCl ⁽⁸⁾. Применение этого метода к нашему материалу дало сравнительно низкие выходы фосфора нуклеиновых кислот. Возможно, что он будет полезен для определения свободных или рыхло связанных с белком нуклеиновых кислот.

При обработке описанным выше способом фиксированных нагреванием и высушенных листьев табака вытяжка в растворе CCl_3COOH осаждалась магnezийной смесью для разделения минерального фосфора и кислотно-растворимого органического ⁽⁹⁾. Попытка выделить описанными в литературе способами фракцию метафосфатов ⁽¹⁰⁾ привела к отрицательным результатам и, следовательно, они не были обнаружены в листьях табака. Точно так же в нашем материале не были обнаружены фосфопротеиды.

Фосфор определялся колориметрически при помощи ступенчатого фотометра.

Материалом служили листья табака сорта Самсун. В табл. 1—4 данные, относящиеся к одному и тому же опыту, приводятся под одними и теми же номерами. Прежде всего приводятся данные о формах фосфора у табаков здорового и с резко выраженной мозаичной болезнью в листьях разного возраста. Далее приводятся результаты опыта, в котором листья табака, собранные в период цветения, были разрезаны вдоль средней жилки пополам, причем одни половинки были тотчас зафиксированы, а другие половинки выдерживались во влажном эксикаторе в темноте 7 суток и только после этого фиксировались. Первые половинки обозначены как исходные, а вторые — как голодающие.

Наконец, мы воспользовались применявшимся нами ранее методом ⁽¹¹⁾ и определили фосфор в половинках листьев, собранных здоровыми и натертых соком здоровых или соком больных растений. Половинки, обозначенные как накапливающие, и здоровые выдерживались во влажном эксикаторе 6—7 суток. Первые к концу опыта внешне не отличались от здоровых, однако обнаруживали высокий титр вирусного нуклеопротеида. В табл. 1, 2 и 3 приводятся результаты опытов.

Таблица 1

Формы фосфора в здоровых, мозаичных и голодающих листьях табака в % на сухой вес

№№	М а т е р и а л	общий	Кислотно-растворимый		Нуклеопро- теиды	Рибозная нукл. к-та	Дезоксири- бозная нукл. к-та
			минер.	орга- нич.			
1	Здоровый молодой	0,665	0,363	0,127	0,170	0,107	0,068
1a	Больной »	0,650	0,250	0,190	0,178	0,152	0,026
1b	Здоровый старый	0,415	0,180	0,140	0,087	0,070	0,014
1c	Больной »	0,360	0,135	0,110	0,088	0,077	0,011
2	Здоровый средний	0,420	0,195	0,115	0,145	0,095	0,050
2a	Больной »	0,470	0,209	0,120	0,145	0,095	0,050
3	Здоровый исходный	0,368	0,135	0,096	0,105	0,084	0,021
3a	Здоровый голодающий	0,370	0,196	0,064	0,076	0,044	0,032
3b	Больной исходный	0,370	0,134	0,099	0,095	0,076	0,019
3c	Больной голодающий	0,370	0,193	0,057	0,083	0,059	0,024
4	Здоровый »	0,490	—	—	0,10	0,08	0,02
4a	Накапливающий голодающий	0,490	—	—	0,09	0,08	0,01
5	Здоровый »	0,620	0,370	0,150	0,110	0,057	0,063
5a	Накапливающий »	0,630	0,350	0,160	0,115	0,054	0,064

Существует большая литература о биохимических изменениях в листьях табака при голодании, однако в ней отсутствуют данные о сдвигах, которые при этом происходят в формах фосфора. Как показывают наши опыты, голодание приводит к резкому увеличению количества минерального фосфора: количество его после голодания оказалось в 1,5 раза больше исходного. Это увеличение происходит не только за счет кислотно-растворимого органического фосфора, но также, что более важно, и за счет нуклеопротеидной фракции, в которую входят истинные нуклеопротеиды, а также свободная или рыхло связанная нуклеиновая кислота. Из табл. 1 видно, что при голодании уменьшается количество рибозной нуклеиновой кислоты. Таким образом, имеются все основания предполагать, что это высокополимерное соединение может использоваться растением в процессе превращения энергии.

Сравнение больного и здорового табака не позволяет обнаружить в формах фосфора закономерных различий. Только в молодых листьях на-

Формы фосфора в листьях табака в % к общему фосфору

№№	М а т е р и а л	Кислотно-растворимый		Нуклеопро- теиды
		минер.	органич.	
1	Здоровый молодой	54,5	19,0	25,6
1a	Больной »	38,4	29,2	27,3
1b	Здоровый старый	43,3	33,7	20,9
1c	Больной »	37,5	30,5	24,4
2	Здоровый средний	46,4	27,3	34,5
2a	Больной »	44,4	25,5	30,9
3	Здоровый исходный	36,7	26,3	28,5
3a	Здоровый голодающий	53,0	17,3	20,5
3b	Больной исходный	36,2	26,7	25,7
3c	Больной голодающий	52,1	15,4	22,4
4	Здоровый »	—	—	20,4
4a	Накопляющий голодающий	—	—	18,2
5	Здоровый »	59,6	24,2	17,7
5a	Накопляющий »	55,5	25,8	18,3

блюдались более резкие различия, но по одному опыту трудно судить, закономерны ли они. В ряде случаев отношение рибозной фракции нуклеиновой кислоты у больных растений к дезоксирибозной выше, чем у здоровых, но иногда они не отличаются. При голодании нуклеопро-теидная фракция расходуется у больных половинок в меньшей степени, чем у здоровых (табл. 3).

Таблица 3

Формы фосфора в листьях больного и накапливающего вирус табака в % к фосфору здорового

№№	М а т е р и а л	Кислотно-растворимый			Нуклеопро- теиды
		общий	минер.	органич.	
1a	Больной молодой	97,7	68,8	149,0	104,7
1c	Больной старый	86,8	75,0	78,6	101,2
2a	Больной средний	111,9	103,1	104,3	100,0
3b	Больной исходный	100,5	99,3	100,0	90,4
3c	Больной голодающий	100,0	98,5	89,0	109,2

Из большого числа работ известно, что при мозаичном заболевании табака количество белкового азота возрастает. В отдельных опытах мы снова определили его и в нашем материале. Обычный метод осаждения белка CCl_3COOH дает более высокие величины белкового азота, чем определение его в щелочной вытяжке, свободной от липоидов. Табл. 4 приводит относящиеся сюда данные. Отношение азота к фосфору вычислено только для щелочной вытяжки.

Табл. 4 показывает, что щелочная вытяжка больных растений, несмотря на накопление вирусного нуклеопро-теида и на возрастание количества азота в ней, беднее фосфором, чем вытяжка здоровых растений. При голодании эта фракция у больных растений расходуется несколько меньше, чем у здоровых.

Из табл. 1—3 видно, что в процессе накопления вирусного нуклео-протеида не наблюдается усиленного накопления нуклеиновых кислот,

Таблица 4

Белковый азот здоровых, больных и голодающих
табачных листьев в % на сухой вес

№№	М а т е р и а л	Белковый азот		N/P
		осажденный CS ₂ COOH	извлеченный KOH	
2	Здоровый средний	3,38	—	—
2a	Больной »	4,13	—	—
3	Здоровый исходный	3,95	3,50	33,3
3a	Здоровый голодающий	3,20	2,70	35,5
3b	Больной исходный	4,50	3,90	41,0
3c	Больной голодающий	3,50	3,30	39,8

что существенно отличается условия синтеза вирусного нуклеопротеида от условий, которые многократно констатировались для синтеза нормальных белков.

В ы в о д ы

1. При голодании табачных листьев идут процессы минерализации фосфора и расходуется рибозная нуклеиновая кислота.

2. Заболевание мозаичной болезнью и накопление вирусного нуклеопротеида не сопровождаются закономерным увеличением фосфора нуклеопротеидов и нуклеиновых кислот.

3. Отношение азота к фосфору в щелочной фракции из больных листьев табака выше, чем в щелочной фракции из здоровых листьев, и, следовательно, она у больных листьев беднее фосфором.

Институт микробиологии
Академии наук СССР

Поступило
29 X 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Л. Рыжков, М. Н. Воробьева и Е. П. Громыко, ДАН, 24, № 3 (1939).
- ² М. А. Кудрявцева и Л. Л. Прозоровская, Биохимия, 6, в. 4—5, 401 (1941).
- ³ M. Holden and M. V. Tracey, Biochem. Journ., 43, No. 1, 151 (1948).
- ⁴ В. Л. Рыжков и М. Н. Воробьева, Биохимия, 7, в. 3, 79 (1942).
- ⁵ В. К. Залесский, Превращения и роль соединений фосфора в растениях, 1912.
- ⁶ В. Л. Рыжков, Микробиология, 12, в. 1, 37 (1943).
- ⁷ G. Schmidt and S. Thannhauser, Journ. Biol. Chem., 161, No. 1, 83 (1945).
- ⁸ R. Williams, Austral. Journ. Exp. Biol. and Med. Sci., 23, No. 3, 213 (1945).
- ⁹ А. Л. Курсанов, Биохимия, 3, в. 6 (1938).
- ¹⁰ S. Spiegelmann and M. D. Kamen, Cold Spring Harbor Symposia on Quant. Biol., 12, 211 (1947).
- ¹¹ В. Л. Рыжков, Вестн. АН СССР, № 10, 28 (1940).