

Б. А. РУБИН и В. Е. СОКОЛОВА

## К ВОПРОСУ ОБ УЧАСТИИ ФОСФОРА В ПРЕВРАЩЕНИЯХ КРАХМАЛА В ЖИВОМ РАСТЕНИИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 13 IX 1947)

Согласно современным представлениям, основывающимся главным образом на исследованиях, проведенных *in vitro*, в процессах синтеза и распада полисахаридов решающую роль играют реакции фосфорилирования. Однако до последнего времени имелось сравнительно мало экспериментальных данных, которые позволили бы судить о роли этих процессов в живой растительной клетке, хотя некоторые исследования давали определенные указания на участие фосфора в углеводном обмене в высших растениях. Еще в 1931 г. А. И. Опариным и А. Л. Курсановым<sup>(1)</sup> было выдвинуто предположение, что синтез сахарозы в растении включает в качестве одного из этапов реакции фосфорилирования. Позднее эта точка зрения получила подтверждение в ряде работ<sup>(2-7)</sup>.

Что же касается крахмала, то, несмотря на большое количество работ, проведенных с картофельной фосфорилазой *in vitro*, существование связи процессов фосфорилирования с превращениями полисахаридов в растении до сих пор не получило экспериментального подтверждения. Изучение этого вопроса *in vivo* наталкивается на серьезные затруднения, связанные с тем, что в данном случае всегда приходится иметь дело с целым рядом сопряженных реакций. Если считать, что превращения крахмала осуществляются через глюкозо-1-фосфат, то несомненно, что накопление крахмала должно сопровождаться увеличением содержания неорганического фосфора и, наоборот, при распаде крахмала будет наблюдаться снижение содержания его. Однако совершенно очевидно, что неорганический фосфор, освобождающийся при синтезе крахмала, так же как и фосфорные эфиры, образующиеся при распаде последнего, не могут накапливаться в клетке. На известном этапе они несомненно будут вовлекаться в ряд параллельно протекающих реакций, в силу чего зависимость между изменениями в содержании крахмала и фосфора должна быть искажена. Было законно, однако, предположить, что эти реакции вторичного характера проявляют свое влияние лишь после достижения определенного уровня в содержании реагирующих веществ. Исходя из этого предположения, представляется возможным уловить такой отрезок времени, когда превращения крахмала будут прямо пропорциональны изменениям содержания неорганического фосфора, в том случае, конечно, если фосфор действительно принимает непосредственное участие в процессах синтеза и распада крахмала в живой растительной клетке.

Для установления существования предполагаемой зависимости нами была поставлена серия опытов на клубнях картофеля. Участки ткани клубней инфильтрировались с помощью метода вакуум-инфильтрации смесью глюкозы и неорганического фосфата ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), и через определенные промежутки времени (от 30 мин. до 3 час.) отбирались пробы для определения крахмала и неорганического фосфата. Изме-

ния в содержании неорганического фосфата и крахмала устанавливались по разности с контрольной пробой, которая анализировалась немедленно после инфильтрации, причем предварительно вносились поправки на изменения, вызываемые самим процессом инфильтрации.

Результаты опытов показали, что в пределах первых 60 мин. от момента инфильтрации существует полный параллелизм в изменениях содержания крахмала и неорганического фосфора. Однако при более продолжительных экспозициях наблюдавшаяся ранее прямая связь, как правило, нарушается. Часовая экспозиция является переломным пунктом, после которого кривые изменений содержания крахмала и

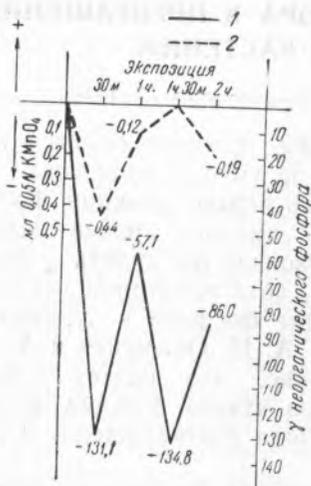


Рис. 1. Изменение содержания крахмала (в мл 0,05 N KMnO<sub>4</sub> на 1 г сыр. веса) и неорганического фосфора (в γ на 1 г сыр. веса). Опыт 5 III 1946 г. Клубни картофеля. Инфильтрация: фосфат + глюкоза. Экспозиция от 30 мин. до 2 час. 1 — неорганический P, 2 — крахмал

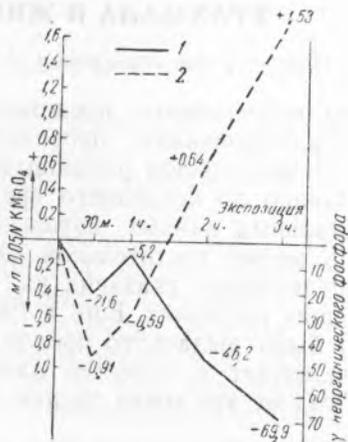


Рис. 2. Изменение содержания крахмала (в мл 0,05 N KMnO<sub>4</sub> на 1 г сыр. веса) и неорганического фосфора (в γ на 1 г сыр. веса). Опыт 22 III 1946 г. Клубни картофеля. Инфильтрация фосфатом. Экспозиция от 30 мин. до 3 час. 1 — неорганический P, 2 — крахмал

неорганического фосфора делаются как бы зеркальными (рис. 1). Это обусловливается, очевидно, влиянием побочных процессов, роль которых за пределами указанных 60 мин. становится преобладающей. Очень возможно, что это нарушение прямой связи в некоторых случаях обусловливается нарастающей гидролитической деятельностью амилазы, участие которой в процессах распада крахмала отнюдь не исключается. Аналогичные данные были получены при введении в ткани клубней одного фосфата (рис. 2).

Иная картина обнаруживается при инфильтрации в ткани клубней одной глюкозы или воды. В этих случаях прямой связи между изменениями содержания крахмала и неорганического фосфора не наблюдается и в ближайшие после инфильтрации отрезки времени. Кривые изменений в данном случае носят тот же характер, что и кривые, получаемые при инфильтрации фосфата + глюкозы при длительных экспозициях (рис. 3).

Полученные данные позволяют предположить, что прямую связь между изменениями содержания крахмала и фосфора можно уловить только тогда, когда в клетке имеется некоторый избыток неорганического фосфата. Этот избыток создается при введении в ткани растения одного фосфата или фосфата в смеси с глюкозой, однако, он, повидимому, не может сохраняться в клетке в течение более или менее продолжительного времени. Введенный фосфор вовлекается в ряд процес-

сов, протекающих в клетке параллельно с превращениями крахмала, связывается тем или иным путем и, таким образом, снова восстанавливается равновесие, существовавшее в тканях растения до инфильтрации. Вычисления показали, что, несмотря на значительные колебания, количества неорганического фосфора были всегда много ниже теоретически требуемых, рассчитанных по количеству распавшегося или образовавшегося крахмала на основании уравнения:



Судя по этим данным, фосфор, участвующий в углеводном обмене, обладает очень большой подвижностью, позволяющей одной молекуле фосфорной кислоты осуществлять отщепление или присоединение не-

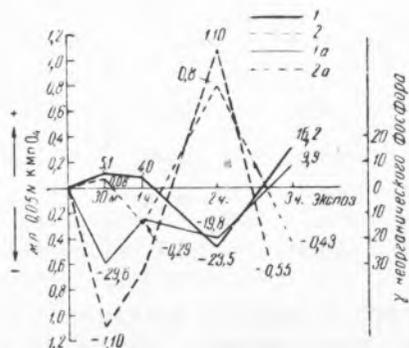


Рис. 3. Изменение содержания крахмала (в мл 0,05 N KMnO<sub>4</sub> на 1 г сырого веса) и неорганического фосфора (в γ на 1 г сырого веса) в клубнях картофеля при инфильтрации водой и глюкозой. Экспозиция от 30 мин. до 3 час. Инфильтрация H<sub>2</sub>O: 1 — неорганический P, 2 — крахмал; инфильтрация глюкозы: 1a — неорганический P, 2a — крахмал

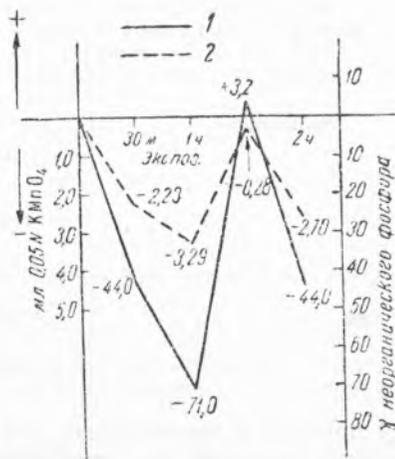


Рис. 4. Изменение содержания крахмала (в мл 0,05 N KMnO<sub>4</sub>) и неорганического фосфора (в γ на 1 г сырого веса). Опыт 9 VII 1946 г. Листья картофеля. Инфильтрация фосфат + глюкоза. Экспозиция от 30 мин. до 3 час. 1 — неорганический P, 2 — крахмал

скольких молекул глюкозы. Повидимому, в условиях ограниченного содержания свободного фосфора, какие создаются при длительных экспозициях или имеют место при инфильтрации одной глюкозы или воды, скорость превращений промежуточных фосфорных соединений достигает таких пределов, которые не позволяют уловить прямую связь между превращениями крахмала и неорганического фосфора.

Опыты, аналогичные только что описанным, были повторены на листьях картофеля. Результаты этих опытов целиком подтвердили существование прямой связи между изменениями в содержании крахмала и неорганического фосфора, причем оказалось, что в листьях эта связь не нарушается даже при доведении экспозиции до 2 час. (рис. 4).

Все опыты с клубнями были проведены в весенние месяцы, т. е. в такое время, когда в вегетативных органах запаса идет мобилизация пластических веществ и процессы обмена направлены в сторону распада последних. Поэтому казался вполне объяснимым тот факт, что введение смеси фосфора и глюкозы в ткани растения в ряде случаев сопровождалось распадом крахмала. То же самое наблюдалось и при инфильтрации воды и даже глюкозы. Это показывало, что направленность процессов превращения крахмала в данном случае не зависит от

состава инфильтрируемой смеси. Инфильтрация сама по себе являлась воздействием, которое активировало процессы распада.

Опыты с листьями проводились на пробах, отобранных в утренние часы, в июле и августе. В этот период процессы синтеза в растении идут весьма интенсивно. Поэтому можно было предполагать, что введение фосфора и глюкозы в качестве субстрата будет способствовать усилению процессов образования крахмала или, по крайней мере, не повлечет за собой распада последнего, как это имело место в опытах с клубнями. Однако во всех случаях при введении фосфора + глюкозы наблюдалось усиление распада крахмала, тогда как инфильтрация воды вызывала, как правило, повышение интенсивности синтеза его (табл. I).

Изменения в содержании крахмала (в мл 0,05 N KMnO<sub>4</sub> на 1 г сыр. веса) и неорганического фосфора (в γ на 1 г сыр. веса) в листьях картофеля

Таблица I

Экспозиция	Инфильтрирована вода		Инфильтрирован фосфат + глюкоза	
	крахмал	неорган. P	крахмал	неорган. P
30 мин. . . . .	0,0	+ 5,6	-2,23	-44,0
1 час . . . . .	+1,64	+12,0	-3,39	-71,0
1 ч. 30 мин. . . . .	+0,62	+ 3,2	-0,28	0,0
2 часа . . . . .	+1,82	+26,4	-2,7	-44,0

Это привело к заключению, что фосфор и глюкоза, вводимые в ткани листьев растения, не претерпели немедленного превращения в глюкозо-1-фосфат, может быть, в связи с тем, что это превращение протекает довольно сложным путем при участии адениловой системы и ряда ферментов и, повидимому, требует известного промежутка времени. Вследствие этого, в клетке создавался некоторый избыток неорганического фосфора, который смещал ход процесса в сторону распада крахмала. Это явление несомненно должно было иметь место и в клубнях картофеля и его не удалось уловить там только благодаря тому, что оно было замаскировано общим ходом процессов обмена, направленных в сторону распада запасных веществ.

Данные наших опытов находятся в плане тех представлений о роли фосфора в синтезе и распаде полисахаридов, которые создались на основании работ, проведенных in vitro. Поэтому можно считать, что наблюдавшаяся зависимость между изменениями содержания крахмала и неорганического фосфора не является случайной корреляцией и процессы превращений фосфора и крахмала в растении функционально связаны между собой. Существование такой связи до известной степени может служить подтверждением участия фосфора в превращениях крахмала в живой растительной клетке. Однако характер этой связи во многих случаях очень трудно уловим, благодаря большой подвижности фосфорных соединений, принимающих участие в целом ряде протекающих в клетке процессов.

Поступило  
13 IX 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> А. И. Опарин и А. Л. Курсанов, Biochem. Z., 1, 239 (1931). <sup>2</sup> Н. М. Исакян, Биохимия, 1, 301 (1936). <sup>3</sup> W. Z. Hassid, Plant Physiol., 13, 3, 641 (1938). <sup>4</sup> А. Л. Курсанов и Н. Н. Крюкова, Биохимия, 3, 4, 529 (1938). <sup>5</sup> А. Л. Курсанов и Н. Н. Крюкова, Биохимия, 4, 2, 229 (1939). <sup>6</sup> Н. Н. Крюкова, Биохимия, 5, 3, 574 (1940). <sup>7</sup> С. Е. Hart, Hawaiian Plant Res., 47 (4), 223 (1943).