

БИОХИМИЯ

К. Л. ПОВОЛОЦКАЯ и Н. И. ЗАЙЦЕВА

БИОСИНТЕЗ РИБОФЛАВИНА В ПОРАНЕННЫХ РАСТЕНИЯХ

(Представлено академиком А. И. Опарином 12 I 1951)

В последнее время внимание биохимиков привлечено к тем биохимическим реакциям, которые происходят в растении при ранениях. Работами З. Кармановой (¹) и К. Л. Поволоцкой (²) было показано новообразование аскорбиновой кислоты в измельченных семядолях гороха. С. Д. Львов с сотрудниками (³) наблюдал подобное явление в измельченных кусочках луковиц и в листьях аспидистра. С. М. Прокошев (⁴) показал, что в измельченных кусочках картофеля идет интенсивный биосинтез аскорбиновой кислоты и новообразование белка. С. Костычев (⁵) и позднее Эппельман и Браун (⁶) наблюдали изменение характера дыхания при раневых реакциях.

На основании приведенных литературных данных можно было притти к выводу, что ранение растения ведет к повышению энергии окислительных и синтетических процессов и, следовательно, активности всех участвующих в них ферментных систем. Так как рибофлавин является очень важным участником окислительных процессов, можно было предполагать, что при ранении должно происходить повышенное его образование.

Содержание рибофлавина сопоставлялось нами с биосинтезом тиамина, аскорбиновой кислоты и с энергией дыхания. Кроме того, нас интересовал вопрос, чем объясняется различная способность разных тканей к образованию аскорбиновой кислоты при ранениях. Поэтому мы использовали для работы различные ткани растений.

Экспериментальная часть

Объектами исследования являлись семядоли гороха, клубни картофеля, лист и кочерыжка капусты, листья овса и листья begonii. Определение рибофлавина проводилось флуорометрическим методом, определение аскорбиновой кислоты — титрованием кислотных вытяжек с 2,6-дихлорфенолиндофенолом, тиамина — по флуорометрическому методу, дыхание — по методу Варбурга. После измельчения растения выделялись разные сроки в темноте при комнатной температуре.

В табл. 1 представлены результаты опытов с измельченными семядолями гороха.

Из табл. 1 видно, что в семядолях гороха идет новообразование рибофлавина, причем его количество через 3 дня возрастает примерно в 2,5 раза по сравнению с цельными растениями, находящимися в тех же условиях.

Опыты с картофелем проводились на сорте Лорх урожая 1948 г. Вначале мы определили содержание рибофлавина на трети сутки в крупно нарезанном картофеле и получили следующие данные (в γ на 1 г сухого вещества): наружный слой 2,68, средний слой 1,68, внут-

Таблица 1

Биосинтез рибофлавина в измельченных семядолях гороха при инкубировании (в % на 1 г сух. в-ва)

| Измельчение семядолей | 1-й опыт | | | % от цельного опыта | 2-й опыт | | | Среднее из двух опытов | | |
|---------------------------------------|-----------|------|------|---------------------|-----------|------|------|------------------------|--|--|
| | Дни опыта | | | | Дни опыта | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | | | |
| Цельные горошины (контроль) | 1,44 | 1,58 | 1,69 | 100 | 2,55 | 2,63 | 2,84 | 100 | | |
| Половинки | — | — | — | — | 2,20 | 2,41 | 2,63 | 92 | | |
| Четвертушки | 2,40 | 2,61 | 2,76 | 163 | 3,26 | 3,58 | 3,72 | 130 | | |
| Восьмушки | 2,42 | 4,36 | 4,49 | 265 | 2,70 | 4,01 | 5,40 | 190 | | |
| Мелко нарезанные | 2,96 | 4,77 | 4,88 | 288 | 3,91 | 5,16 | 6,07 | 213 | | |
| | | | | | | | | 250 | | |

Таблица 2

Изменение содержания свободного и связанного рибофлавина в семядолях гороха при инкубировании (в % на 1 г сух. в-ва)

| Измельчение семядолей | Общий | | | Свободный | | | Связанный | | |
|---------------------------------------|-----------|------|-------|-----------|------|-------|-----------|------|------|
| | Дни опыта | | | | | | | | |
| | 2 | 3 | 6 | 2 | 3 | 6 | 2 | 3 | 6 |
| Цельные горошины (контроль) | 3,92 | 4,11 | 13,12 | 1,43 | 1,84 | 4,66 | 1,49 | 2,68 | 8,46 |
| Половинки | 5,13 | 5,22 | 13,63 | 2,18 | 2,14 | 9,51 | 2,95 | 3,08 | 4,12 |
| Четвертушки | 5,78 | 6,12 | 13,23 | 2,13 | 3,14 | 9,85 | 3,65 | 2,98 | 3,38 |
| Восьмушки | 6,90 | 8,25 | 18,00 | 3,50 | 4,50 | 10,73 | 3,40 | 3,75 | 7,27 |

ренний слой 1,03, исходный 0,93. Отсюда следует, что основной биосинтез идет на самой поверхности среза. Все дальнейшие опыты проводились с мелко нарезанным картофелем.

Таблица 3

Изменение содержания свободного и связанного рибофлавина в мелко нарезанном картофеле при инкубировании (в % на 1 г сух. в-ва)

| Время после измельчения в днях | Общий | Свободный | Связанный |
|--------------------------------|-------|-----------|-----------|
| Исходный . . | 1,65 | 0,40 | 1,25 |
| 1 . . . | 1,82 | 0,73 | 1,08 |
| 2 . . . | 2,68 | 1,55 | 1,13 |
| 3 . . . | 4,56 | 3,94 | 0,62 |

нарезанных же кусочках на третий сутки большая часть рибофлавина находится в свободной форме, а на связанную с белком форму приходится лишь 14 %.

В последующей серии опытов было одновременно прослежено за образованием рибофлавина, тиамина, аскорбиновой кислоты, а также за

Далее мы определяли формы рибофлавина (свободный и связанный) в семядолях гороха и в картофеле.

В табл. 3 приведены результаты определения свободного и связанного рибофлавина в мелко нарезанном картофеле.

Результаты этих опытов показывают, что в цельном горохе идет энергичное образование связанного с белком рибофлавина, в то время как в измельченных семядолях содержание связанного рибофлавина падает, а свободного возрастает. Такой же результат получен и с картофелем: в исходном картофеле до 75 % рибофлавина находится в связанной форме, в мелко

нарезанных же кусочках на третий сутки большая часть рибофлавина находится в свободной форме, а на связанную с белком форму приходится лишь 14 %.

В последующей серии опытов было одновременно прослежено за образованием рибофлавина, тиамина, аскорбиновой кислоты, а также за

энергией дыхания. Опыты проводились в темноте и на свету. В табл. 4 приведены результаты этих опытов с семядолями гороха, а в табл. 5 — со срезами картофеля.

Таблица 4

Содержание рибофлавина, тиамина, аскорбиновой кислоты и энергия дыхания в измельченных семядолях гороха на шестые сутки после измельчения* (среднее из 3 опытов)

| Измельчение семядолей | В темноте | | | На свету | | |
|---------------------------------------|-------------------|-----------------|--------|-------------------|-----------------|--------|
| | аскорбин. к-та | рибо- флавин | тиамин | аскорбин. к-та | рибо- флавин | тиамин |
| Цельные горошины (контроль) | 41,04 | 2,17 | 17,42 | 44,0 | 1,70 | 25,16 |
| Половинки | 42,80 | 3,15 | 18,94 | 44,8 | 2,34 | 27,70 |
| Четвертушки | 61,97 | 5,16 | 22,21 | 64,6 | 4,94 | 31,30 |
| Восьмушки | 43,9 | 4,06 | 26,41 | 75,61 | 4,72 | 28,67 |

* Содержание веществ как здесь, так и в дальнейших таблицах приведено в следующих величинах: рибофлавина и тиамина — в γ на 1 г сухого вещества, аскорбиновой кислоты — в мг на 100 г сухого вещества, дыхания — в $\text{mm}^3 \text{O}_2$, поглощенного 1 г сухого вещества за 10 мин.

Таблица 5

Содержание рибофлавина, тиамина, аскорбиновой кислоты и энергия дыхания в мелко нарезанных клубнях картофеля при инкубировании (среднее из 2 сортов)

| Время после измельчения в днях | В темноте | | | На свету | | | | |
|--------------------------------|-------------------|-----------------|--------|----------|-------------------|-----------------|--------|---------|
| | аскорбин. к-та | рибофла- вин | тиамин | дыхание | аскорбин. к-та | рибофла- вин | тиамин | дыхание |
| Исходный | 29,8 | 1,02 | 9,35 | 32,2 | 29,8 | 1,02 | 9,35 | 32,2 |
| 1 | 38,6 | 1,49 | 9,81 | 50,0 | 32,5 | 1,35 | 6,64 | 57,4 |
| 2 | 60,1 | 2,20 | 8,32 | 74,9 | 58,8 | 2,08 | 6,02 | 83,2 |
| 4 | 87,1 | 3,98 | 7,01 | 90,5 | 79,4 | 3,46 | 5,67 | 101,8 |

Полученные данные показывают, что биосинтез рибофлавина в измельченных семядолях в клубнях картофеля идет параллельно с биосинтезом аскорбиновой кислоты и энергией дыхания. В то же время содержание тиамина уменьшается у картофеля и незначительно возрастает у гороха, и притом не всегда параллельно с возрастанием рибофлавина и аскорбиновой кислоты. Опыты показывают также, что свет не оказывает большого влияния на биосинтез рибофлавина или аскорбиновой кислоты.

Дальнейшие опыты были проведены с листьями овса и бегонии. В табл. 6 приведены полученные средние данные.

Из данных табл. 6 видно, что содержание рибофлавина и аскорбиновой кислоты по мере инкубирования уменьшается.

Полученные нами результаты позволяют подтвердить биохимическими данными положение Т. Д. Лысенко о разнокачественности тканей растений. Для дальнейшей проверки этого предположения мы провели опыты с листьями и кочерышкой капусты (см. табл. 7).

Таблица 6

Изменение содержания рибофлавина и аскорбиновой кислоты в измельченных листьях овса и бегонии при инкубировании (среднее из 3 опытов)

| Время после измельчения в днях | Листья овса | | Листья бегонии | |
|--------------------------------|-------------|----------------|----------------|----------------|
| | рибофлавин | аскорбин. к-та | рибофлавин | аскорбин. к-та |
| Исходный | 25,4 | 675,6 | 90,7 | 912,4 |
| 1 | 23,4 | 473,4 | 59,5 | 595,3 |
| 2 | 16,0 | 463,9 | 52,6 | 424,8 |
| 3 | 15,3 | 375,0 | — | — |

Опыты с капустой подтвердили наше предположение: в измельченных листьях капусты идет разрушение как аскорбиновой кислоты, так и рибофлавина, в мелких же кусочках кочерышки идет энергичное ново-

Таблица 7

Содержание рибофлавина и аскорбиновой кислоты в измельченных листьях и кочерышке капусты при инкубировании (в γ на 1 г сух. в-ва)

| Время после измельчения в днях | Лист | | Кочерышка | |
|--------------------------------|------------|----------------|------------|----------------|
| | рибофлавин | аскорбин. к-та | рибофлавин | аскорбин. к-та |
| Исходный | 4,18 | 398,2 | 2,27 | 321,9 |
| 1 | 3,27 | 372,3 | 3,93 | 358,1 |
| 2 | 2,26 | 353,4 | 7,00 | 580,0 |
| 3 | 0,62 | 341,8 | 11,50 | 600,0 |

образование этих веществ. Таким образом, способность к раневому биосинтезу присуща далеко не всем растительным тканям, а лишь тем, которые входят в состав органов, способных к вегетативному размножению.

Всесоюзный научно-исследовательский
витаминный институт

Поступило
18 XII 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ З. Карманова, Тр. Витаминн. ин-та, 1, 118 (1936). ² К. Л. Поволоцкая, Сборн. Проблема витаминов, 2, 20, 1937. ³ С. Д. Львов, Г. Гуцевич и А. Пантелеева, Уч. зап. ЛГУ, сер. биол. наук, 15, 151 (1945). ⁴ С. М. Прошков, Биохимия, 9, 36 (1944); С. М. Прошков и Е. И. Данчева, Биохимия, 11, 481 (1946); 12, 356 (1947). ⁵ С. Костычев, Pflanzenaltnung, Berlin, 1924. ⁶ С. Апплеман and R. Brown, Am. Journ. Bot., 33, 170 (1946).