

О. А. ПАВЛИНОВА

ФОСФОРНЫЕ ЭФИРЫ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

(Представлено академиком А. И. Опариным 2 II 1952)

Некоторые исследователи считают, что фосфорные эфиры сахаров являются непосредственными предшественниками сахарозы в растении (1), однако при проверке этот взгляд пока не получил подтверждения (2). Прямое участие фосфорилированных сахаров в образовании углеводов в растениях установлено лишь для крахмала; в частности, недавно было показано (3), что в картофельном клубне, где образуется крахмал, содержатся большие количества фосфорных эфиров сахаров.

Мы предположили, что если фосфорные эфиры участвуют в синтезе сахарозы, то органы растения, в которых происходит образование сахарозы, должны обладать повышенным содержанием этих соединений.

В связи с этим мы предприняли изучение фосфорорганических эфиров в листьях и корнях сахарной свеклы. Хотя выделение некоторых фосфорных соединений (гексозомонофосфатов) из листьев сахарной свеклы было осуществлено еще в 1934 г. (4), количественное определение этой группы веществ было проведено лишь в 1940 г. А. Курсановым, который разработал первый метод отдельного определения фосфорорганических эфиров (5, 6). Позднее был предложен другой, более подробный метод анализа фосфорорганических соединений, разработанный сначала для бактерий (7), а затем примененный Умбрейтом и для других тканей (8).

Для фракционирования фосфорных соединений по Умбрейту мы брали средние пробы листьев и корней сахарной свеклы „Верхнячка“ (25 г). Пробы заливались жидким азотом, растирались в замороженном состоянии и подвергались 4-кратной экстракции трихлоруксусной кислотой на холоду. Полученные экстракты разделялись на три фракции путем осаждения фосфорных соединений в виде бариевых солей из воды и спирта, после чего в каждой из фракций определялось содержание фосфорорганических соединений.

Нужно отметить, что применение метода Умбрейта к растительным объектам имеет некоторые особенности, которые необходимо учитывать при анализе (окрашенность растительных экстрактов, содержание в последних большого количества сахаров, мешающих определению фосфорных эфиров, и др.).

Результаты определений фосфора и фосфорорганических соединений сахарной свеклы даны в табл. 1 и 2.

Из табл. 1 видно, что листья сахарной свеклы богаче неорганическим фосфором, чем корни. Содержание органического фосфора, куда входят фосфорные эфиры и другие активные продукты фосфорного обмена, также выше у листьев. Эти данные хорошо согласуются с опытами Н. М. Сисакяна и А. Л. Курсанова (9, 10), которые показали, что способность листьев сахарной свеклы к синтезу сахарозы **связ-**

зана с присутствием в них фосфорной кислоты и фосфорных эфиров сахаров.

Таблица 1

Содержание неорганического и органического фосфора в листьях и корнях сахарной свеклы (в мг фосфора на 10 г сырого веса)

| | Листья | Вегетирующие корни | Хранящиеся корни |
|--------------------------|--------|--------------------|------------------|
| Фосфор неорганический | 6,71 | 4,31 | 3,56 |
| „ органический | 2,41 | 1,41 | 1,23 |
| „ общий | 9,12 | 5,72 | 4,79 |

Таблица 2

Содержание фосфорорганических соединений в листьях сахарной свеклы (в мг вещества на 10 г сырого веса)

| | Листья | Вегетирующие корни | Хранящиеся корни |
|---------------------------------------|--------|--------------------|------------------|
| Глюкозо-6-фосфат | 1,65 | 1,16 | 1,27 |
| Глюкозо-1-фосфат | 0,18 | 0,13 | 0,12 |
| Фруктозо-6-фосфат | 0,34 | 0,41 | 0,39 |
| Фруктозо-1,6-дифосфат | 0,62 | 0,29 | 0,30 |
| 3-фосфоглицериновая кислота | 1,94 | 0,49 | 0,45 |
| Фитин | 1,69 | 1,03 | 0,86 |

В табл. 2 приведены результаты определений фосфорных соединений листьев и корней сахарной свеклы. Как показывает табл. 2, среди фосфорных эфиров сахаров в листьях в значительных количествах представлен глюкозо-6-фосфат, первый продукт фосфорилирования гексоз. Второе место занимает фруктозодифосфат; содержание же фруктозо-6-фосфата и особенно лабильного глюкозо-1-фосфата незначительно.

Интересно отметить высокое содержание фосфоглицериновой кислоты как в зеленых, так и в бесцветных тканях свекловичного растения. В настоящее время фосфоглицериновой кислоте придается важное значение как промежуточному продукту фотосинтеза и гликолиза. Фосфоглицериновая кислота, обнаруженная в листьях, может быть, по видимому, как того, так и другого происхождения. В корнях же ее появление, видимо, связано с ферментативным распадом фруктозодифосфата. Как показывают полученные результаты, в углеводно-фосфорном обмене сахарной свеклы фосфоглицериновой кислоте принадлежит существенное место.

В тканях листьев и корней обнаружен также фитин, который, по видимому, является запасной формой эфирно-связанного фосфора.

Из табл. 2 видно, что в корнях сахарной свеклы найдено значительно меньше фосфорных соединений, чем в листьях. Так например, содержание фосфорилированных сахаров в корнях, исследованных в период вегетации, в 1,5—2 раза ниже, чем в листьях (за исключением

фруктозо-6-фосфата), а содержание фосфоглицериновой кислоты понижено даже в 3 раза.

Приведенные данные характеризуют вегетирующий корень как орган с невысокой интенсивностью углеводно-фосфорного обмена. Это следует не только из содержания фосфорных эфиров в тканях, но также и из сопоставления количества фосфорилированных сахаров с абсолютным содержанием простых сахаров. Данное отношение может, повидимому, в ряде случаев характеризовать напряженность углеводно-фосфорного обмена. Так например, по некоторым данным (3), в клубнях картофеля около 80% сахаров являются фосфорилированными. Высокой степенью фосфорилированности отличаются молодые побеги чая, в которых содержание фосфорных эфиров достигает 50% от общего количества сахаров (11), а также ростки пшеницы, овса и люпина, где содержание фосфорилированных сахаров составляет 15—25% (5).

Если с этой точки зрения подойти к сахарной свекле, то ее листовые пластинки также могут быть отнесены к тканям с высоким углеводно-фосфорным обменом, поскольку фосфорные эфиры (включая фосфоглицериновую кислоту) составляют в них 17% от общего количества редуцирующих сахаров. В корнях же сахарной свеклы процент фосфорилированных сахаров значительно ниже (5—7% от содержания моносахаров), что может рассматриваться как признак ослабленного фосфорного обмена.

В пользу того же говорят и данные по составу фосфорных эфиров в хранящихся (т. е. покоящихся) корнях, которые, несмотря на отсутствие в этот период новообразования сахарозы, мало отличались от корней, взятых в период активного сахаронакопления.

Представленные в табл. 2 фосфорные соединения, найденные в листьях и корнях сахарной свеклы, содержат в своем составе лишь часть того органического фосфора, который извлекается из тканей трихлоруксусной кислотой. Довольно значительное количество экстрагируемого фосфора приходится на долю соединений неизвестной природы. Эти вещества остаются в растворе после осаждения спиртом бариевых солей гексозомонофосфатов, т. е. переходят в III фракцию по Умбрейту (см. табл. 3).

Как видно из табл. 3, фосфор, входящий в соединения III фракции листьев, составляет довольно большую часть общего органического фосфора (0,45 мг, или 27,5%). В корнях же на долю III фракции приходится около половины органического фосфора.

Ввиду того что природа соединений, составляющих III фракцию, остается неизвестной, мы попытались в настоящей работе определить, насколько прочно

связан фосфор, входящий в состав этих соединений (см. табл. 4).

Из табл. 4 видно, что фосфорные соединения, которые мы находим в III фракции, не представляют собой однородной группы. Состав их в листьях и корнях, повидимому, несколько различен, на что указывает

Таблица 3

Распределение органического фосфора в листьях и корнях сахарной свеклы (в мг фосфора на 10 г сырого веса)

| Фракции | Листья | Вегетирующие корни | Хранящиеся корни |
|---|--------|--------------------|------------------|
| I. Бариевые соли не растворимы в воде | 0,92 | 0,43 | 0,36 |
| II. Бариевые соли не растворимы в спирте | 0,26 | 0,22 | 0,23 |
| III. Бариевые соли растворимы в воде и спирте | 0,45 | 0,60 | 0,57 |
| Общий органический фосфор | 1,63 | 1,25 | 1,16 |

разная устойчивость этих веществ по отношению к кислотному и щелочному гидролизу. Так, у листьев небольшая часть фосфорных производных III фракции расщепляется под действием 7-минутного и 3-часового гидролиза с 1 N HCl. Корни не содержат такого рода соединений. Под действием 4-часового щелочного гидролиза в листьях и покоящихся корнях освобождается довольно значительная часть органического фосфора III фракции. В вегетирующих же корнях таких веществ, видимо, нет.

Таблица 4

Расщепление фосфорных соединений III фракции под действием кислотного и щелочного гидролиза (в мг фосфора на 10 г сырого веса)

| | Листья | Вегетирующие корни | Хранящиеся корни |
|---|--------|--------------------|------------------|
| 7-минутный гидролиз с 1 N HCl | 24 | 0,0 | 0,0 |
| 3-часовой гидролиз с 1 N HCl | 14 | 0,0 | 0,0 |
| 4-часовой гидролиз с 10% NaOH | 198 * | 0,0 | 103 |
| Общий органический фосфор III фракции | 453 | 600 | 570 |

* Определение фосфора было затруднено в связи с образованием неопределенной окраски при добавлении реактивов. Поэтому приведенная величина является ориентировочной.

с образованием трудно гидролизуемых пентозофосфорных кислот (12). Более точное выяснение состава соединений III фракции встречается с трудностями, так как в эту фракцию переходят сопутствующие вещества экстракта, мешающие дальнейшей очистке и выделению.

Схема Умбрейта предусматривает также определение АТФ, АДФ и адениловой кислоты. Эти определения можно проводить, устанавливая определенные соотношения между фосфором и пентозами. Но так как в наших опытах эти показатели давали несопадающие результаты, мы не получили цифр, которые удовлетворяли бы нас по точности. В связи с этим возможность определения АТФ в растительных тканях по Умбрейту мы считаем сомнительной.

Выражаю благодарность проф. А. Л. Курсанову за ценные советы и внимание к работе.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
1 II 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ W. Z. Hassid and E. W. Putman, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **1**, 109 (1950).
² А. Л. Курсанов и О. А. Павлинова, *Биохимия*, **15**, 52 (1950). ³ В. Arreguin-Lozano and J. Bonner, *Plant Physiol.*, **24**, 720 (1940). ⁴ J. Burkard и С. Neuberg, *Biochem. Zs.*, **270**, 229 (1934). ⁵ А. Л. Курсанов, *Биохимия*, **3**, 467 (1938). ⁶ А. Л. Курсанов, *Обратимое действие ферментов в живой растительной клетке*, 1940, стр. 137. ⁷ G. A. Le Page and W. W. Umbreit, *Journ. Biol. Chem.*, **147**, 263 (1943). ⁸ В. В. Умбрейт, Р. Х. Буррис и Дж. Ф. Штауффер, *Монометрические методы изучения тканевого обмена*, М., 1951. ⁹ Н. М. Сисакян, *Биохимия*, **1**, 301 (1936). ¹⁰ А. Л. Курсанов и Н. Н. Крюкова, *Биохимия*, **4**, 229 (1939). ¹¹ А. Н. Нижерадзе, *Биохимия чайного производства*, Сборн. **5**, 67 (1946). ¹² J. Mandl and C. Neuberg, *Arch. Biochem. Biophys.*, **33**, 191 (1951).