Доклады Академии наук СССР
1955. Том 100, № 3

БИОХИМИЯ

Академик Чехословацкой Академии наук Ф. ШОРМ и М. ЗЕЛИНКОВА

О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИКОВ НА РАЗВИТИЕ РОСТКОВ РАСТЕНИЙ

(Представлено академиком А. И. Опариным 13 XI 1954)

Действие антибиотиков на растения изучалось сравнительно мало. Работы в этом направлении имеют по большей части общий характер ([1–7]) и, насколько нам известно, этот вопрос не решался с точки зрения общего объяснения механизма действия антибиотиков на живую клетку. В этом новом направлении мы и ориентировали свою работу о действии *D*-хлорамфеникола на высшие растения.

Задачей нашей предварительной работы ([8]) являлось установить в морфологическом отношении направление и степень подавляющего действия *D*-хлорамфеникола на развитие прорастающих семян с разным характером запасных веществ. Мы нашли значительное различие в интенсивности и в направлении подавляющего действия антибиотика на семена белковые, крахмалистые и маслянистые. Наиболее сильное подавление как общего роста, так и биосинтеза хлорофилла наблюдалось в проростках семян с белковыми запасными веществами. Развитие ростков, у которых преобладали углеводные запасные вещества, подавлялось слабее, а торможение биосинтеза хлорофилла было в условиях наших опытов недостаточно четким. У маслянистых семян рост проростков замедлен только очень немного, но зато весьма явственно подавление биосинтеза хлорофилла. В присутствии кноповского питательного раствора в культивационной среде повышалось подавляющее действие *D*-хлорамфеникола. Рост этиолированных ростков тормозился слабее: точно так же и различия в интенсивности действия *D*-хлорамфеникола на отдельные типы проростков были гораздо менее выражены.

На основании этих результатов мы пришли к заключению, что *D*-хлорамфеникол производит как у бактерий ([9], [10]), так и у высших растений подавляющее действие, в особенности на метаболизм белков. Поэтому в дальнейшей работе ([11]) мы изучали некоторые стороны метаболизма азота и его изменения в присутствии *D*-хлорамфеникола у разных типов растительных ростков. Мы нашли, что изучаемый антибиотик вызывает заметное накопление свободного аланина в ростках растений самых разнообразных типов. Содержание аланина по сравнению с общим азотом повышается при концентрации *D*-хлорамфеникола 60 μг/мл в 5-дневных ростках пшеницы в 12 раз, рапса в 5 раз, гречихи в 4 раза и гороха в 3,5 раза. В присутствии аланина в культивационной среде вместе с *D*-хлорамфениколом подавляющее действие антибиотика повышается, в то время как аланин сам по себе слабо стимулирует развитие проростков и в особенности их корневой системы.

Вопрос о накоплении свободного аланина мы изучали более подробно на ростках пшеницы, у которых накопление этой аминокислоты максимально. Содержание аланина изучалось в течение прорастания

семян, причем как в темноте, так и на свету. Результаты опытов приведены в табл. 1.

Таблица 1

Изменение содержания общего азота, аминного азота и аланина в ростках пшеницы во время прорастания в присутствии *D*-хлорамфеникола. (У проростков удалялись запасные органы. Концентрация *D*-хлорамфеникола 30 μг/мл. Данные выражены в мг/мл 50% гомогената с 3% уксусной кислотой, лишенного белка)

Возраст ростков в днях	Общий N, мг/мл		Аминный N, мг/мл		Аланин, мг/мл	
	контроль	*D*-хлорамфеникол	контроль	*D*-хлорамфеникол	контроль	*D*-хлорамфеникол
	В этиолированных ростках					
2	0,837	0,979	0,295	0,343	0,105	0,291
4	0,765	0,915	0,317	0,423	0,030	0,600
6	0,760	1,122	0,318	0,521	0,040	0,290
8	0,827	1,295	0,330	0,573	0,035	0,194
	В зеленых ростках					
2	0,822	0,958	0,302	0,373	0,110	0,147
4	0,550	0,937	0,215	0,490	0,035	0,900
6	0,610	1,220	0,224	0,589	0,040	0,790
8	0,576	1,147	0,209	0,522	0,030	0,220

Из табл. 1 ясно, что фотосинтез не влияет на накопление свободного аланина в ростках. Это накопление аланина в проростках пшеницы достигает четкого максимума около 4-го дня, после чего происходит сравнительно быстрое падение. Что касается изменений содержания остальных аминокислот, то мы ограничились в этом отношении пока только лишь качественными наблюдениями и нашли, что в ростках пшеницы весьма заметно повышается также содержание серина и глицина и глутаминовой кислоты, а именно, в особенности на 6-й день, другими словами — после максимума аланина.

Таблица 2

Изменения содержания пировиноградной кислоты в этиолированных ростках пшеницы в зависимости от концентрации *D*-хлорамфеникола (у проростков удалялись запасные органы, возраст 4 дня. Данные выражены в μг/мл 50% гомогената с 3% уксусной кислотой, лишенного белка. Удаление белка произведено без нагревания)

D-хлорамфеникол, μг/мл	Содержание пировиноградной кислоты			
	по отношению к живому весу		по отношению к сух. веществу	
	μг/мл	%	μг/мл	%
0	4,6	100	4,6	100
15	7,15	157	6,1	133
30	8,55	187	7,1	154
60	6,5	141	5,2	113

В связи с этими результатами мы изучали в ростках пшеницы, ингибированных *D*-хлорамфениколом, изменения пировиноградной кислоты, как предполагаемого предшественника аланина или также серина и глицина. Определение пировиноградной кислоты производилось в вытяжках по Фридману и Гаугену [12] динитрофенилгидразином. Результаты сведены в табл. 2.

Из табл. 2 вытекает, что *D*-хлорамфеникол вызывает значительное повышение содержания пировиноградной кислоты.

В дальнейшем мы занялись выяснением вопроса, является ли накопление свободного аланина специфическим проявлением действия *D*-хлорамфеникола. Для этого мы изучали, с одной стороны, действие других антибиотиков: террамицина, ауреомицина, стрептомицина и пенициллина, а с другой, — действие некоторых ионов металлов: $Mg^{\cdot\cdot}$, $Na^{\cdot}$, $Co^{\cdot\cdot}$, $Fe^{\cdot\cdot}$ и $Ni^{\cdot\cdot}$ на развитие ростков пшеницы.

Мы обнаружили, что террамицин, ауреомицин и стрептомицин вызывают накопление свободного аланина аналогично *D*-хлорамфениколу. При этом наиболее эффективным является террамицин, вызывающий в концентрации 30 μг/мл более сильное подавление роста и большее накопление аланина, чем ауреомицин, который действует приблизительно, как *D*-хлорамфеникол. У стрептомицина подавляющее и приблизительно одинаковое накопление аланина проявляются только в концентрации 300 μг/мл. Напротив, пенициллин, который вызывает примерно такое же подавление роста ростков пшеницы только лишь в концентрации около 3000 μг/мл, не вызывает ни накопления аланина, ни иных изменений в содержании остальных свободных аминокислот.

Из числа исследованных ионов металлов, примененных в концентрациях, вызывающих примерно одинаковое подавление роста ростков пшеницы, как и *D*-хлорамфеникол в концентрации 30 μг/мл, накопление свободного аланина вызывают только ионы никеля. При концентрации $Ni^{\cdot\cdot}$ 15 μг/мл, при которой рост подавляется на 44%, содержание аланина повышается приблизительно в 15 раз, считая на живой вес.

Из этих опытов следует, что накопление аланина в проростках растений не является специфическим для действия антибиотика. Это обстоятельство привело нас к опытам с устранением подавляющего действия *D*-хлорамфеникола и никеля. После ряда опытов мы установили, что сильное антагонистическое действие производят ионы магния, притом только в сравнительно узких границах концентраций. Результаты этих опытов приводятся в табл. 3.

Таблица 3

Антагонистическое действие магния. (4-дневные этиолированные ростки пшеницы без запасных органов. Содержание *D*-хлорамфеникола, $Mg^{\cdot\cdot}$ и $Ni^{\cdot\cdot}$ в μг на 1 мл культивационной среды. Содержание аланина выражено в мг/мл 50% гомогената безбелкового)

D-хлорамфеникол, μг/мл	$Ni^{\cdot\cdot}$, μг/мл	$Mg^{\cdot\cdot}$, μг/мл	% роста	Аланин, мг/мл	*D*-хлорамфеникол, μг/мл	$Ni^{\cdot\cdot}$, μг/мл	$Mg^{\cdot\cdot}$, μг/мл	% роста	Аланин, мг/мл
0	0	0	100	0,030	30	0	6	64	0,430
0	0	12	100	0,030	30	0	12	55	0,710
30	0	0	48	0,910	0	15	0	44	0,470
30	0	1	52	0,700	0	15	3	54	0,160
30	0	3	54	0,510	0	15	6	62	0,150

Резюмируя полученные до сих пор результаты относительно механизма действия *D*-хлорамфеникола на развитие проростков растений, мы приходим к заключению, что изучаемый нами антибиотик оказывает неспецифическое влияние на некоторые общие процессы растительного метаболизма или метаболизма живых организмов вообще. В пользу этого говорит также то обстоятельство, что фотосинтез не влияет на накопление аланина. Найденный факт, что накопление аланина сопровождается также постепенным значительным повышением содержания свободного серина и глицина, а позже и глутаминовой

кислоты, т. е. аминокислот, метаболизм которых связан с пировиноградной кислотой, приводит нас к предположению, что первичное действие антибиотика касается метаболизма пировиноградной кислоты. Это предположение подтверждают также найденные нами факты содержания пировиноградной кислоты в подопытных ростках. Заметное повышение концентрации биологически столь активного соединения, как пировиноградная кислота, и ее метаболитов ведет к предположению, что здесь тормозятся некоторые процессы ее многостороннего матаболизма.

На основании наших дальнейших результатов, касающихся антагонистического действия ионов магния на *D*-хлорамфеникол, мы приходим к заключению, что подавляющее действие этого антибиотика стоит в известной связи с метаболизмом ионов магния, при этом или прямо, если предположить образование комплексного соединения ионов магния с хлорамфениколом, или же косвенно тем, что при этом повышаются требования растения в отношении магния. О связи *D*-хлорамфеникола с метаболизмом ионов магния свидетельствуют, далее, косвенно также результаты параллельных серий опытов с растениями этиолированными и зелеными. Это, с одной стороны, сам факт торможения биосинтеза хлорофилла, а с другой, — значительно более сильное подавляющее действие *D*-хлорамфеникола на зеленые растения, проявляющееся в более сильном угнетении роста и в большем количестве накопленного аланина. Естественно предположить, что часть ионов магния в этом случае блокирована для растения тем, что она вступает в состав молекулы хлорофилла.

Биохимическое отделение
Института органической химии
Чехословацкой Академии наук
Прага

Поступило
13 XI 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] H. von Euler, Kemiska Arbeten, Ny Följd, **2**, 9 (1947). [2] H. von Euler, Arkiv Kemi, Mineral., Geol., **25A**, No. 17 (1948). [3] W. H. Schopfer, M. Bein, G. Besson, Actes soc. helv. sci. nat., **148** (1951). [4] W. H. Schopfer, E. Grob, G. Besson, V. Keller, Arch. sci. (Geneva), **5**, 108 (1952). [5] W. H. Schopfer, M. Bein, G. Besson, Résumés des communications, IIe Congrès international de biochimie, Paris, 1952. [6] D. D. Bella, C. Gabellini, Boll. soc. ital. biol. sper., **27**, 1204 (1951). [7] G. Nétien, P. Hutinel, O. Sotty, C. r. soc. biol., **146**, 1337 (1952). [8] F. Šorm, N. Zeliková, Z. Šormová, Chem. Listy, **48**, 910 (1954). [9] E. F. Gale, J. P. Folkes, Biochem. J., **53**, 493 (1953). [10] F. Šorm, D. Grünberger, Chem. Listy, **47**, 1657 (1953). [11] M. Zelinková, F. Šorm, ibid., **48**, 1246 (1954). [12] T. E. Friedmann, G. Haugen, J. Biol. Chem., **147**, 415 (1943).