

✓
АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛОРУССКОЙ ССР
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ

20138

На правах рукописи

В.Н. РЕШЕТНИКОВ

ИССЛЕДОВАНИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ВЕЩЕСТВ
И СООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ НИМИ В ВАЖНЕЙШИХ
СОРТАХ КАРТОФЕЛЯ БССР

Автореферат

диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук

Научный руководитель – академик
АН БССР, доктор биологических
наук, профессор А.С. ВЕЧЕР

МИНСК – 1966

Караев - Белохвост
Азот.

108

131285

1044

АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛОРУССКОЙ ССР
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ

На правах рукописи

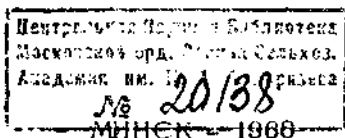
В.Н. РЕШЕТНИКОВ

ИССЛЕДОВАНИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ВЕЩЕСТВ
И СООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ НИМИ В ВАЖНЕЙШИХ
СОРТАХ КАРТОФЕЛЯ БССР

Автореферат

диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук

Научный руководитель — академик
АН БССР, доктор биологических
наук, профессор А.С. ВЕЧЕР



Работа выполнялась в 1963-1965 гг в лаборатории биохимии растений Института экспериментальной ботаники АН БССР.

Диссертация изложена на 148 страницах машинописи и состоит из введения, 4-х глав, выводов и списка литературы, включающего 200 названий, из них 95 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 34 таблицами, 13 графиками и 9 рисунками.

Защита диссертации состоялась на заседании Объединенного ученого совета Института экспериментальной ботаники АН БССР
.....1966 г.

Автореферат разослан 1966 г.

Отзывы и замечания по диссертации просьба присылать по адресу: г. Минск, Академическая, 27, Институт экспериментальной ботаники, ученому секретарю.

ВВЕДЕНИЕ

Азотсодержащие вещества клубней картофеля, являющиеся после крахмала наиболее значительной и ценной частью сухого вещества, уже не раз обращали на себя внимание исследователей. Имеется значительное число работ, посвященных азотсодержащим веществам картофеля как в нашей стране, так и за рубежом (Smith, Petersen, 1938; Neuberger, Sanger, 1942; Прокошев, 1947; Slack, 1948; Kröner, Völksen, 1950; Зигле, 1951; Schuphan, Postel, 1957; Schick, Klinkowski, 1961; Miča, 1962 и др.).

Однако хотя исследования и касались почти всех групп этих веществ в отдельности, сравнительная биохимическая характеристика сортов картофеля по азотсодержащим веществам не проводилась, а по данным литературы она мало возможна ввиду того, что исследования выполнялись на разных сортах, почвах, в различные годы и т.д. Азотсодержащие вещества многих сортов картофеля БССР изучены недостаточно. Это относится не только к новым селекционным, но и к районированным на значительных площадях в республике стандартным сортам. Еще менее изучены в сортах картофеля соотношения между различными формами азотсодержащих веществ, представленных в клубнях весьма обширным набором разнообразных соединений. Такие соотношения имеют важное значение для характеристики особенностей обмена азотсодержащих веществ у сортов, обладающих различными хозяйственными качествами и отличающихся генетическим происхождением, для выяснения особенностей и изменений биохимических процессов, вызванных путем селекционного воздействия при выведении сорта, особенностей, которые наиболее ярко могут проявиться именно в соотношениях азотсодержащих веществ. Исследование каждого вещества в отдельности (без учета соотношений) не дает характерной и устойчивой картины сортовых особенностей в отношении азотсодержащих веществ, учитывая огромное влияние среды произрастания на содержание каждого из них в отдельности. Все это особо важно при селекционных работах, направленных на увеличение сухих веществ как за счет крахмала, так и белка, пищевая ценность которого у картофеля высока. Вопросы изучения азотсодержащих веществ и соотношений между ними (и в первую очередь — белковых веществ и нуклеиновых кислот) важны еще и потому, что

это изучение может явиться основой для характеристики большей или меньшей потенциальной продуктивности того или иного сорта, его особенностей.

Биохимическая характеристика определенных сортов картофеля с особым вниманием к азотсодержащим веществам, как имеющим значение при рекомендации новых сортов для переработки и потребления, изучение состава и свойств белковых веществ клубней картофеля и баланса азотсодержащих веществ в связи с сортовыми особенностями, исследование соотношений и зависимостей между азотсодержащими веществами в различных сортах картофеля как возможных показателей при характеристике сортовых особенностей, разработка некоторых специальных методик исследования — таковы основные задачи и предмет исследований данной диссертационной работы.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для решения поставленных в работе задач анализировались азотсодержащие вещества клубней картофеля, т.е. тех органов растения, ради которых оно возделывается. Изучались клубни 10 сортов: Разваристый, Лошицкий, Форан, Остботе, Зазерский, Агрономический, Скороспелка № 2, Приекульский ранний, Белорусский ранний, Липеньский. Для получения наиболее сравнимых данных клубни указанных сортов подвергались анализам в период их физиологического покоя.

Картофель выращивался на полях отдела селекции и семеноводства картофеля Белорусского научно-исследовательского института плодоводства, овощеводства и картофеля в соответствии с методикой полевого опыта и находился до анализов в картофелехранилище. Средняя проба отбиралась согласно методик А.Г.Шестакова (1940) и А.М.Ермакова с сотрудниками (1952).

При определении аммиачного азота, нитратов, амидов и белков клубней картофеля использовался только свежий материал; для исследования свободных аминокислот, азота оснований и нуклеиновых кислот материал фиксировался кипящим этанолом (конечная концентрация 70–80 %) и хранился до анализов при 0–4°C. При анализах на соланин поверхностный слой клубней (примерно 3 мм толщины) высушивался в тиске горячего воздуха.

При биохимической характеристике азотсодержащих веществ клубней картофеля данные получены при помощи следующих методов.

1. Содержание общего и белкового азота — по Кьельдалю (микрометод и полумикрометод) с отгонкой аммиака паром. Небелковый азот вычислялся по разности между общим и белковым азотом, который определялся в суммарном белке, предварительно выделенном путем последовательного экстрагирования.

2. Фракционный состав белка клубней картофеля определялся путем разделения по растворимости в воде, растворе нейтральной соли и слабой щелочи с определением белков в отдельных фракциях по биуретовому методу и азота по Кьельдалю.

3. Определение нативного, растворимого в клеточном соке белка проводилось рефрактометрическим методом (Вечер, Васильевич, 1963).

4. Определение аммиака проводилось методом дистилляции.

5. Нитраты определялись в водной вытяжке по Гриндваль-Ляку.

6. Азотистые основания извлекались и осаждались по прописи Е.Вэрле (1955), определение их проводилось по А.Н.Белозерскому и Н.И.Проскуракову (1951). В заключение проводилось качественное хроматографическое разделение оснований и приближенная идентификация отдельных веществ путем просмотра хроматограмм в ультрафиолете и проявлением нингидрином и диазотированным бензидином.

7. Раздельное определение амидов — по методике В.Л.Кротовича и З.Г.Евстигнеевой (1951).

8. Аминный азот — колориметрически по интенсивности окраски, получаемой при реакции медно-аминокислотного комплекса с диэтилдитиокарбаматом натрия.

9. Количественное определение свободных аминокислот и аминокислот гидролизата суммарного белка проводилось методом бумажной хроматографии (Насхина, 1964) с использованием нескольких систем растворителей.

Аминокислоты, неопределяемые хроматографическим методом или разрушавшиеся при кислотном гидролизе, определялись отдельно: летионы — по методике, изложенной Т.Лавине (Lavigne, 1943); тимптофон — по методике в модификации Б.Н.Эбарского (1951).

10. Суммарный белок клубней картофеля подвергался электрофоретическому разделению на бумаге с использованием боратного буфера pH 9,05 и ионной силой 0,1 при градиенте напряжения 3,8 вольт/см и силе тока 0,5 - 0,6 ма/см. Время проведения электрофореза - 18-20 часов при температуре 2 - 6°C. Фиксирование, окраска и отмывка электрофореграмм проводились в соответствии с методикой Л.И.Расторгуевой (1961). Для примерной количественной оценки электрофореграммы пропитывали вазелиновым маслом и денситометрировали.

Кроме того, анодные зоны суммарного белка разделялись электрофоретически в полиакриламидном геле по методу В.И.Сафонова (1964).

Раствор исходного белка освобождался от низкомолекулярных частиц диализом или фильтрованием через гель сефадекса (*Sephadex G-25*).

11. Суммарный белок клубней картофеля хроматографировался на ДЭАЭ-целлюлозе с использованием:

а) ступенчатого элюирования растворами с возрастающей концентрацией $NaCl$ (до 0,3 м), а затем pH (Тавровская, 1964).

б) градиентного элюирования при линейном и гиперболическом нарастании концентрации соли (0,3-0,5 м $NaCl$ в питающем сосуде).

Пробы (4-5 мл) отбирались при помощи автоматических коллекторов и фотометрировались на СФ-4 при длине волны 280 мкм. В отдельных случаях белок в пробах определялся по методу Лоури.

12. Нуклеиновые кислоты и пурины кислоторастворимых соединений определялись по методике, предложенной С.В.Нетупской, Г.С. Кураминным и Л.А.Ивлевой (1962) с проведением хроматографии выделенных пуринов.

Для более конкретного установления состава фракции кислоторастворимых соединений, среди которых могут находиться азотистые основания, нуклеотиды, нуклеозиды, олигонуклеотиды и их производные, были испытаны некоторые методики выделения и хроматографиче-

ского и электрофоретического разделения указанных компонентов (Вечер, Курбатов, Райцина, Решетников).

13. Определение соланина проведено по методу Е.Кларке (Clarke, 1958) в модификации Р.Шварце (Schwarze, 1962).

Цифровой материал подвергался математической обработке (Рокицкий, 1961, 1964): влияние отдельных факторов на изменчивость признаков устанавливалась дисперсионным анализом; измерение связи отдельных признаков и явлений определялось вычислением коэффициентов корреляции и регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

I. ИССЛЕДОВАНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЗОТ-СОДЕРЖАЩИХ ВЕЩЕСТВ ВАЖНЕЙШИХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ БССР

При исследовании азотсодержащих веществ сортов клубней картофеля необходимо иметь данные по общему количеству азота и основным группам его - белковому и небелковому азоту. Такие данные приведены в табл. I. Сорта картофеля разбиты на три группы - поздние, среднеспелые и ранние, поскольку хозяйственные качества и биологические особенности сортов, принадлежащих к каждой из этих групп, наиболее существенны.

Таблица I.

Содержание общего, белкового и небелкового азота
в клубнях картофеля (1963 - 1965 гг.)

	Группа по спелости	мг % общего азота		мг % белкового азота		мг % небелкового азота	
		сырой вес	сухой вес	сырой вес	сухой вес	сырой вес	сухой вес
Разваристый	поздние	272	952	159	552	113	400
Ловицкий		390	1292	257	851	133	441
Форак		348	1329	210	797	138	532
Остботе		376	1395	224	816	152	579

Продолжение

	Группа по спелости	мг % общего азота		мг % белкового азота		мг % небелкового азота	
		сырой вес	сухой вес	сырой вес	сухой вес	сырой вес	сухой вес
Зазерский	средне-спелые	351	1519	188	807	163	712
Агрономический		330	1466	176	780	154	686
Скороспелка № 2		356	1664	166	761	190	903
Прикульский ранний	ранние	364	1707	143	663	221	1047
Белорусский ранний		301	1419	135	638	166	781
Липеньский		352	1680	161	724	191	956

Каждая из групп - белковый и небелковый азот - подвергнута исследованию по сортам относительно индивидуальных веществ, входящих в каждую из указанных групп.

Вещества небелковой природы.

Низкомолекулярные неорганические формы азотсодержащих веществ (аммиак, нитраты) представлены в клубнях сортов картофеля незначительными количествами: 0,68 - 1,06 мг % на сырой вес нитратного азота (0,18 - 0,27 % от общего азота) и 5-6 мг% NH_3 (1,5 % от общего азота).

В группу азотистых оснований и других веществ вторичного происхождения входит большое количество веществ. Кроме аминокислот, обладавших основными свойствами (гистидин, лизин и аргинин), из веществ этой группы удалось приблизительно идентифицировать гистамин, триптамин, β -фенилэтиламин, тригонеллин, холин, ксантин, тирамин, кадаверин, пуриновые основания и некоторые другие вещества. Суммарное количество азота оснований (мг% на сырой вес) колебалось по сортам в пределах 10,4-19,0; т.е. 3-5 % от общего и 6-10 % от небелкового азота.

Из других веществ вторичного происхождения наибольшее значение для характеристики клубней картофеля в связи с токсичностью имеет соланин. Его содержание (в мг% на сырой вес) составляло: по сорту Разваристый - 0,55; Лошицкий - 1,93; Форан - 3,15; Остботе - 1,23; Зазерский - 1,50; Агрономический - 1,36; Скороспелка № 2 - 1,60; Приекульский ранний - 1,20; Белорусский ранний - 1,74; Липеньский - 1,10.

Свободные аминокислоты и амиды аминокислот представляют собой группу азотсодержащих веществ, являющихся одной из наиболее значительных по ее количеству. Она составляет основную часть небелкового азота (77-130 мг% аминного азота на сырой вес, т.е. 41-65 % от небелкового азота) и включает в себя значительное количество индивидуальных веществ.

Исследования свободных аминокислот показали, что эти соединения подвержены наиболее значительным колебаниям в клубнях картофеля как по годам произрастания, так и сортам.

Суммарное количество свободных аминокислот в клубнях урожая 1964 г. (мг% аминокислот на сухой вес) было следующим: по сорту Разваристый - 1046; Лошицкий - 685; Форан - 973; Остботе - 1209; Зазерский - 1780; Агрономический - 1402; Скороспелка № 2 - 2254; Приекульский ранний - 2301; Белорусский ранний - 1579; Липеньский - 2329.

В клубнях картофеля могут накапливаться в значительных количествах амиды аминокислот (20-33 % от общего и 49 - 63 % небелкового азота). В свете положения, что амиды являются резервирующими соединениями относительно аминных групп и что оба они играют различающуюся роль в процессах метаболизма клетки (Кретович, Евстигнеева, Асеева, 1964), было проведено раздельное определение амидов. Данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

Содержание азота аспарагина и глутамина в клубных
картофеля (мг% на сырой вес)

С о р т	Азот аспарагина		Азот глутамина	
	1963г.	1964г.	1963г.	1964г.
Разваристый	25,1	58,7	15,3	12,5
Лопицкий	63,9	79,4	18,3	20,2
Форап	59,0	90,6	15,0	15,4
Остботе	60,0	99,1	18,2	22,0
Зазерский	58,5	76,2	15,5	20,8
Агронимический	63,8	71,1	25,8	25,3
Примекульский ранний	63,2	114,2	28,4	37,2
Белорусский ранний	49,4	47,0	35,8	47,4
Липеньский	64,5	67,7	45,1	35,9

Результаты исследований показали, что и амиды и аминокислоты подвержены значительным колебаниям. Одна из аминокислот — пролин — в начале хранения почти отсутствует в клубнях, но затем количества ее возрастают особенно значительно (табл.3).

Таблица 3

Количество свободного пролина по срокам хранения клубней (мг % на сырой вес)

	С о р т								
	Ло-пицкий	Раз-варис-тый	фо-ран	Ост-боте	За-зерский	Агро-номи-чес-кий	Пр.-ран-ний	Бел.-ран-ний	Ли-пеньский
Октябрь	2,1	2,1	1,4	2,9	9,9	3,2	6,1	3,7	5,8
Январь	3,0	2,8	1,4	2,1	11,0	3,4	6,9	4,8	5,8
Апрель	12,6	8,4	7,0	7,0	14,7	6,3	12,9	10,5	9,8

Такая изменчивость в содержании пролина представляет определенный интерес, о чем будет сказано ниже.

Обзор литературы показал, что работ, посвященных нуклеиновым кислотам, нуклеотидам и азотистым основаниям клубней картофеля недостаточно, что сопряжено с большими трудностями, обуславливаемыми низким содержанием этих веществ относительно других соединений, мешающих определению.

Изучение кислоторастворимой фракции клубней картофеля, в состав которой могут входить азотистые основания и свободные нуклеотиды, показало, что общее содержание их незначительно. Из нуклеотидов кислоторастворимой фракции удалось количественно определить лишь цитидиловую кислоту, уридилловая кислота обнаружена качественно. В связи со значительной лабильностью пуриновых нуклеотидов по сравнению с пиримидиновыми, пуриновые нуклеотиды были гидролизованы до пуриновых оснований, и по ним можно было судить о наличии свободных пуриновых нуклеотидов. Содержание указанных веществ в кислоторастворимой фракции клубней картофеля по сортам составило (в мг на 100 г сухого веса): гуанина 9-10, аденина 5-9, цитидиловой кислоты 8, уридилловая кислота определена качественно.

Определение нуклеиновых кислот и пуринов кислоторастворимых соединений дало следующие результаты (табл.4).

Таблица 4

Содержание пуринов кислоторастворимых соединений, ДНК и РНК в клубнях картофеля

	Пуринов в мг% на сухой вес	ДНК в мг% на сухой вес	РНК в мг% на сухой вес
Разваристый	12,11	4,86	35,61
Ломикский	13,32	5,24	42,94
Фора	13,51	5,28	44,20
Отбото	11,90	4,45	41,51
Саворский	15,41	5,76	28,91
Агрономический	13,41	4,81	41,21
Прислульский ранний	11,78	5,24	37,5
Белоросский ранний	11,78	4,15	31,6
Алтанский	11,8	5,18	37,3

Как видно из данных таблицы 4, наибольшие колебания количества указанных веществ приходится на долю РНК.

Содержание пуринов в составе РНК (выделенных путем осаждения азотнокислым серебром и разделенных хроматографически) оказалось следующим: гуанина - 3,6; аденина - 2,5 мкг на 1 г сухого веса картофеля, т.е. в составе этого соединения наблюдается количественное преобладание гуанина.

Белки клубней картофеля.

Суммарное количество белка в клубнях картофеля колеблется по исследованным сортам в пределах 0,8 - 1,6 % на сырой вес и 3,5 - 5,3 % на сухой вес (среднее за 1963-65 гг.). Количество белкового азота по сортам представлено в табл. I. Однако определение общего количества белка в сортах клубней картофеля является лишь их общей характеристикой. Для установления и изучения возможных различий суммарных белков по указанным сортам проводились дальнейшие исследования.

Определение аминокислотного состава суммарных белков в сортовом разрезе показало незначительные колебания в количествах составляющих белки аминокислот. Крайние границы колебаний количества аминокислот гидролизата суммарных белков клубней картофеля по исследованным сортам приведены в табл. 5.

Таблица 5

Аминокислотный состав суммарных белков клубней картофеля (крайние пределы колебаний по исследованным сортам)

Аминокислота	мг аминокислоты на 100 мг белка
Аланин	4,9 - 5,2
Аргинин	5,8 - 6,1
Аспарагиновая кислота	12,5 - 12,9
Валин	3,9 - 4,3
Глицин	4,6 - 5,0
Глутаминовая кислота	12,6 - 12,8
Лейцин + изолейцин	12,8 - 13,2
Лизин + гистидин	9,7 - 10,3

Аминокислота	мг аминокислоты на 100 мг белка
Метионин	2,0 - 2,3
Пролин	4,7 - 5,1
Серин	4,8 - 5,1
Тирозин	5,0 - 5,2
Треонин	4,4 - 4,8
Триптофан	1,3 - 1,8
Цистеин	количественно не определялся
Фенилаланин	4,5 - 5,7

Известно, что суммарные белки клубней картофеля включают в себя ряд более индивидуальных белков, которые условно названы фракциями. Исходя из примерно одинакового аминокислотного состава суммарных белков у разных сортов картофеля, можно предположить, что или аминокислотный состав отдельных фракций суммарного белка картофеля примерно одинаков, или же фракционный состав суммарных белков разных сортов идентичен, т.е. различные количества суммарного белка, накопленного сортами, у всех их одинаково распределяются по имеющимся фракциям. Для решения этих вопросов необходимо фракционирование белков.

Фракционирование суммарных белков на основе различной степени растворимости их в разных растворителях показало, что основное количество белка приходится на долю водорастворимых (70-80%), затем целочерастворимых (10-20%) и, наконец, солерастворимых (5-10%) белков. В зависимости от сортовых особенностей эти соотношения имели некоторые колебания.

Однако такое фракционирование имеет еще весьма общий характер, поэтому в дальнейшем было применено электрофоретическое разделение суммарных белков и их хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе.

Данные электрофореза не подтверждают предположения, что фракционный состав суммарного белка разных сортов идентичен. Хотя у всех сортов и наблюдается одинаковое количество белков - 12

и их общее расположение имеет сходство по сортам, однако интенсивность и подлинность каждой из этих зон различны. Например, сравнение электрофорграмм суммарного белка сортов Остботе, Зазерского и Белорусского раннего, имеющих соответственно 212,181 и 156 мг/ белкового азота, показало, что интенсивности окраски зон (фракций белка) изменялись в различной мере по имеющимся фракциям - зонам, одни из которых резко уменьшались, другие - возрастали, третьи - претерпевали незначительные изменения. Следовательно, фракционный состав суммарного белка разных сортов не одинаков, и различные количества суммарного белка, накапливаемого сортами, у всех их не одинаково распределялись по имеющимся фракциям.

Колоночная хроматография белков на ДЭАВ-целлюлозе позволила выделить 9 основных фракций (отдельных пиков или групп их) по исследованным сортам. Однако последний пик, полученный элюированием 1% $NaOH$, можно считать нехарактерным, поскольку это денатурированный белок. Первый пик, элюированный исходным буферным раствором, представляет фракцию неадсорбированного ДЭАВ-целлюлозой белка, имеющего положительный заряд в данной области рН. Отметим, что фракции, полученные при хроматографии, не представляют собой полностью гомогенных белков, а содержат один - два и более близких по свойствам белков.

Как и в случае электрофореза, общая картина выхода белковых фракций имеет много общего по сортам, однако каждый сорт имеет определенный индивидуальный характер кривой с различным соотношением величин пиков, что говорит о различном фракционном составе суммарных белков различных сортов картофеля. Оба метода (электрофорез и хроматография) указывают на индивидуальный характер распределения накапливаемого сортами белка по отдельным фракциям, несущий исключительно генетическую обусловленность.

На основе механизма сорбции и десорбции белков на целлюлозонитратах представляется возможным заключить, что аминокислотный состав отдельных фракций суммарного белка характеризуется не только отличающимся составом, присутствием в котором приходится на диаминнодикарбоновые и моноаминодикарбоновые аминокислоты. Фракции, элюирующиеся первыми, содержат сравнительно большее количество диаминнодикарбоновых и меньшее моноаминодикарбоновых амино-

кислот, тогда как в последних фракциях белков наблюдается обратная картина. При определении аминокислотного состава суммарного белка эти различия усредняются, и по этой причине в сортах не наблюдается заметных различий в этом показателе.

Выделение белка и определение его аминокислотного состава дало возможность определить биологическую ценность картофельного белка исследованных сортов, выразив ее через ЕАА - индекс (*essential amino acid - index*), вычисленный по Озеру (Oser, 1951). Показана высокая питательная ценность картофельного белка.

2. СООТНОШЕНИЯ И ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ АЗОТСОДЕРЖАЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ В ИССЛЕДОВАННЫХ СОРТАХ КАРТОФЕЛЯ

Данные исследований показывают, что имеется различие, как по количеству индивидуальных азотсодержащих веществ, так и по общему азоту, содержание которого на сухой вес имеет тенденцию к увеличению от поздних к ранним сортам картофеля.

Рассмотрение соотношений и зависимостей отдельных групп азотсодержащих веществ и индивидуальных соединений между собой и основными формами азотсодержащих веществ - общим, белковым и небелковым азотом - показало следующее.

Данные анализов низкомолекулярных неорганических форм азотсодержащих веществ показали, что количества этих веществ мало вариабельны, не подвержены сколько-нибудь существенно влиянию сорта и не коррелируют с общим количеством азота других форм.

Исследование зависимости между изменением количества азотистых оснований и небелкового азота по сортам картофеля показало, что вариация количества азотистых оснований в определенной степени связана с вариацией количества небелкового азота. Эта сопряженная вариация выражена коэффициентом корреляции $r = + 0,67$, т.е. увеличение азота оснований соответственно связано с увеличением небелкового азота.

Между содержанием азота оснований и количеством солианина в клубнях исследованных сортов картофеля корреляционной зависимости

обнаружено не было. Выяснено, что определяющим в накоплении со-
ланина является фактор генетического происхождения сорта, а не
уровень содержания азота оснований.

Свободные аминокислоты в клубнях картофеля подвержены зна-
чительным изменениям, а количества отдельных аминокислот могут
быть индикатором определенных процессов или биологических особен-
ностей сорта. Например, пролин вначале периода хра-
нения количественно едва обнаруживается; с течением периода хра-
нения в результате определенных процессов метаболизма количество
пролина значительно увеличивается, причем интенсивность этого уве-
личения зависит от длины вегетационного периода сорта (принадлеж-
ности сорта к группе по спелости). Процесс накопления пролина
связан с подготовкой клубня к прорастанию, причем количество про-
лина у ранних сортов в первой половине периода хранения выше, чем
у поздних сортов. Это указывает на более высокую активность про-
цессов подготовки и прорастания клубней ранних сортов. Появление
определенных количеств пролина может явиться своеобразным "инди-
катором" ранеспелости сорта.

Суммарно амиды аминокислот подвержены меньшим изменениям
по сортам, однако при исследовании на присутствие каждого амида
в отдельности оказалось, что глутамин претерпевает более замет-
ные количественные изменения, чем аспарагин, имея тенденцию к
увеличению от поздних к ранним сортам. Соотношение амидов у сор-
тов и групп сортов различно. С помощью метода дисперсионного ана-
лиза установлена статистическая достоверность влияния принадлеж-
ности сорта к группе по спелости на отношение азот аспарагина/
азот глутамина, которое уменьшается от поздних сортов к ранним.

Отношение белковый/небелковый азот имеет подобную тенден-
цию, т.е. оно уменьшается от поздних сортов к ранним. Величина
этого отношения может служить условным показателем способности
ткани клубней разных сортов картофеля к синтезу белков.

В работах Г. Рейсига (*Reissig*, 1958) указывается, что
имеется зависимость между процентным содержанием белкового азо-
та в общем азоте и длиной вегетационного периода сорта. Она вы-
ражается в том, что с увеличением длины вегетационного периода
сорта увеличивается доля белкового азота в общем азоте. Эта за-

зисимость была исследована на сортах картофеля, возделываемых в БССР. Дисперсионный анализ полученных данных подтверждает наличие такой зависимости.

Как уже говорилось, электрофоретическое разделение суммарных белков дало 6 зон по всем сортам. Табл.6 иллюстрирует, что соотношение электрофоретических зон крайне различно по сортам.

Таблица 6

Процентное соотношение электрофоретических зон суммарных белков клубней картофеля

Сорт	Электрофоретическая зона					
	A	d_1	d_2	β	γ	δ
Остботе	46,4	5,1	6,1	7,8	21,8	12,7
Лошицкий	43,0	9,4	12,2	7,5	9,1	18,7
Скороспелка № 2	36,4	3,9	12,2	6,7	19,3	21,4
Агрономический	25,5	7,3	11,2	25,0	22,6	8,2
Зазерский	33,9	7,0	21,6	9,7	16,1	11,7
Разваристый	47,3	10,5	12,2	9,9	6,3	13,7

Каждый сорт имеет присущую ему электрофоретическую картину расположения и интенсивности фракций и довольно устойчиво сохраняет ее, т.е. сохраняет свой индивидуальный "белковый спектр". Это явление может подтвердить предположение, что большинство белков у клубней картофеля - это белки биологически активные, жизненно необходимые картофелю растению и обусловлены генетическими факторами. В противном случае мало вероятно получение почти идентичных электрофоретических белков у сортов по годам произрастания.

На основе других данных подобную формулировку приводит А.А. Ермаков (1952): "Каждый сорт (или группа сортов) обладает определенными качественными отличиями, которые тесно связаны с его происхождением". Одним из таких качественных (и основных) различий и является тонкие различия в природе белков, на что указывает электрофоретические и хроматографические исследования белков клубней картофеля.

Центральный Восточный Научно-исследовательский
Институт картофеля
Московской обл. Станция Сельхоз.
Академия им. В. А. Кирпичева
№ 20138

Разделение суммарных белков исследованных сортов картофеля хроматографией на ДЭАЭ-целлюлозе также подтверждает различие в фракционном составе суммарных белков по сортам. Соотношение белковых зон (в процентах к суммарному количеству адсорбированного нативного белка) приведено в табл.7.

Таблица 7

Процентное соотношение площадей пиков суммарных белков картофеля при хроматографии их на ДЭАЭ - целлюлозе

	Обозначение пиков (фракций)						
	A	B	C	D	E	F	G
Лошицкий	9	18	19	19	20	11	3
Белорусский ранний	20	12	19	10	33	3	2
Форап	19	11	9	14	36	4	6
Разваристый	10	18	17	17	30	4	5
Зазерский	17	12	16	12	22	11	10
Агрономический	18	16	16	15	27	7	1

Поскольку по данным литературы и по собственным исследованиям установлено, что пики (зоны белков при хроматографии) обладают определенной ферментативной активностью, то различие в интенсивности и форме пиков по сортам, по-видимому, может быть связано с продуктивностью сорта, которая, в конечном счете, связана с ферментативной активностью клубня.

Электрофорезом и хроматографией проведено разделение белков, растворимых в клеточном соке клубня (или растворах нейтральных солей). Но кроме этих белков в клубне присутствует неэкстрагируемый ("остаточный") белок, т.е. белок, оставшийся в материале после экстракций. Этот белок составляет незначительный процент от общего белка и по сортам колеблется в пределах 15-22 мг% азота белка на сырой вес, что составляет 8-14 % от содержания азота суммарного белка. Вероятно, что "остаточный" белок входит

в состав клеточных мембран и цитоплазматических структур.

Свободные нуклеотиды в клубнях картофеля изучены еще недостаточно. Полученные данные позволяют говорить о наличии этих соединений в свободном состоянии и о значительном преобладании гуаниловых соединений над адениловыми. Их соотношение (гуанин/аденин) в кислоторастворимой фракции клубня колеблется от 1,12 до 1,75. В РНК это соотношение устойчиво и равняется 1,8, т.е. и здесь явно преобладает гуанин. Надо отметить, что в картофеле-растении, отличающимся интенсивно выраженным накоплением запасных форм углеводных соединений, — преобладают именно гуаниловые соединения.

Исследования показали (а дисперсионный анализ данных подтвердил), что даже в период покоя клубней количество РНК и количество накопленного белка находятся на достоверном уровне положительной корреляции ($r = +0,87$, необходимое значение r при уровне значимости 0,01 равно 0,83). Это позволяет сделать вывод, что в клубне происходит постоянное обновление и перестройка белков, что интенсивность этих процессов связана с наличием в клетках необходимых веществ, структур, энергии и информации.

В противоположность РНК, колебания в содержании ДНК по сортам носят случайный характер, на что указывает дисперсионный анализ полученных данных. Все исследованные сорта содержат одинаковое количество ДНК; наблюдаемая вариация количеств ДНК приходится на ошибку опыта.

Основываясь на данных биохимических анализов клубней картофеля сортов, распространенных в СССР, данных математической обработки результатов исследований, а также рассмотрения соотношений азотсодержащих веществ, были сделаны следующие выводы по теме диссертационной работы.

ВЫВОДЫ

1. Сорты картофеля, которые отличаются по хозяйственным качествам, биологическим особенностям и генетическому происхождению, имеют различные количества азотсодержащих веществ в клубнях. Эти различия приходится, в первую очередь, на свободные аминокислоты, амиды и белки. Неорганические формы азота находятся примерно в стабильном количестве, составляют незначительную часть общего азота и слабо варьируют по сортам. То же относится к группе аминов, содержащихся в клубне. Количество гликоалкалоида соланина изменчиво, оно определяется генетической природой сорта и метеорологическими условиями года произрастания.

2. Амиды и свободные аминокислоты являются соединениями, которые подвержены наибольшим количественным колебаниям и качественным изменениям. О последних говорит, в частности, появление в составе свободных аминокислот пролина, который в начале хранения картофеля едва обнаруживается. По интенсивности появления пролина можно судить о раннеспелости сорта.

3. Амиды в клубнях картофеля находятся в определенном соотношении, обусловленном в значительной мере сортом. У ранних сортов соотношение азот аспарагина/азот глутамин ниже, чем у среднеспелых и поздних сортов. Последние отличаются наибольшей величиной этого соотношения, вызванной увеличением аспарагина и уменьшением глутамин.

4. Зависимость и соотношение между общим, азотом, процентным содержанием белкового и небелкового азота заключается в том, что эти связи обусловлены сортом и выражаются в следующем: с увеличением биологической длины вегетационного периода сорта (принадлежности его к группе по спелости) растет и содержание белкового азота в общем азоте и снижается доля небелкового азота. Соотношение белковый/небелковый азот варьирует по сортам в пределах 0,5 - 2,4 и имеет тенденцию к уменьшению с увеличением содержания общего азота.

5. Электрофоретическое и хроматографическое разделение суммарного белка клубней картофеля указало на его сложную ионноосетный состав, который по сортам имеет много общего. Однако

каждый сорт обладает индивидуальностью в составе суммарного белка, выраженной различным соотношением составляющих его компонентов. Причем фракционный состав белков (т.е. соотношения фракций) является устойчивым признаком суммарного белка сортов картофеля.

6. Нуклеиновые кислоты в клубнях картофеля находятся в незначительном количестве. Отношение ДНК/РНК колеблется по сортам в пределах 0,11 - 0,14. Колебания количества ДНК по сортам находятся в пределах ошибки опыта. Количество РНК положительно коррелирует с содержанием белка в клубнях исследованных сортов картофеля.

Биологические особенности сортов картофеля, которые довольно окутаны, определяются, в первую очередь, веществами, осуществляющими информационную функцию в клетке, т.е. ДНК и И-РНК. Однако эти чрезвычайно тонкие качественные различия в структуре указанных веществ сколько-нибудь заметно не проявляются при используемых методах анализов, а отражаются лишь при исследовании функционально связанных с ними веществ - белков клубней картофеля - по соотношению их фракционного состава.

7. Выявленные соотношения (пункт 2,3,4) позволяют по азотсодержащим веществам определить принадлежность того или иного сорта к группе по силе, что является важным моментом при отборе сортов и сеянцев при селекции картофеля.

8. Высокое содержание собственно белков в отдельных сортах само по себе не является признаком вырождения или другой патологии. Об этих явлениях можно (надо) судить по электрофоретической и хроматографической картинах белков сорта, которые необходимо иметь для здорового материала. Изменение этой картины может являться признаком инфекционного заражения картофеля и вырождения его.

9. Исследованный обмен белков азотсодержащих веществ подтверждает, что клубни картофеля способны к самостоятельному синтезу и обмену азотсодержащих веществ. Этот обмен характерен для сорта и обусловлен генетическими факторами.

На основе проведенных анализов дана подробная характеристика важнейших сортов картофеля СССР по азотсодержащим веществам. Это важно при использовании сортов на переработку и потребление.

ОСНОВНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИИ СОДЕРЖАТСЯ В СЛЕДУЮЩИХ
РАБОТАХ:

1. Вечер А.С., Решетников В.Н. Об суадносiнах азотзмятча -
вчых рэчываў у клубнях некаторых сартоў бульбы Беларусi. Вестi
АН БССР, серыя бiялагiчных навук, № 1, 1965.

2. Вечер А.С., Решетников В.Н. О различиях в природе белков
клубней некоторых сортов картофеля. Доклады АН БССР, 1965, т. IX,
№ 10.

3. Василькевич О.К., А.С. Вечер, В.Н. Решетников. Содержание
соланина в ранних и новых сортах картофеля Белорусской ССР.
Материалы Второй биохимической конференции Прибалтийских респуб-
лик и Белорусской ССР, изд. "Знание", Рига, 1965.

4. Вечер А.С., Курбатова С.И., Райшина Г.И., Решетников В.Н.
Хроматографическое определение пуриновых оснований и пиримидино-
вых нуклеотидов в биологических материалах. Доклады АН БССР, 1966,
т. X, № 4.

5. Вечер А.С., Решетников В.Н. О различиях в составе белков
и других азотсодержащих веществ в клубнях некоторых сортов кар-
тофеля. Картофель (сборник материалов Всесоюзного научно-методи-
ческого семинара по картофелю), изд. "Урожай", Минск, 1966.

6. Решетников В.Н., Вечер А.С., Василькевич О.К. Исследование
локализации полифенолоксидазной активности при хроматографии сум-
марного белка клубней картофеля. (В печати).

Материалы по теме диссертации доложены:
на конференции молодых ученых и аспирантов по плодоводству, овоще-
водству и картофелеводству, проводимой Белорусским научно-исследо-
вательским институтом плодоводства, овощеводства и картофеля в
марте 1966 г.;

на заседании XII научно-технической конференции профессорско-пре-
подавательского состава Белорусского политехнического института
(химико-технологическая секция) в апреле 1966г.

Отпечатано на ротопрните МСС при ИСУ БССР

ЛТ 08848, Заказ № 623, Тираж 200 экз., Подписано к печати
12.X.1968г., Бесплатно, г. Минск, Захарова, 31

