

ИНАКТИВАЦИЯ ТРАНСПОРТНОЙ СИСТЕМОЙ АММОНИЯ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ И ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ

Кудряшов А.П., Цап Т.В., Кураленя В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь, kudrant@mail.ru

Специфические системы, осуществляющие перенос через плазмалемму молекул мочевины и аминокислот и ионов нитрата и аммония, внутрь клеток характерны для большинства растений. Транспорт соединений азота в растительную клетку постоянно изменяется под воздействием как факторов окружающей среды, так и под влиянием процессов метаболизма клетки и растения в целом. Остаются еще невыясненными механизмы эндогенной регуляции активности этих систем. Имеющиеся на сегодняшний день данные позволяют предположить, что в растении есть внутренний сенсор азотного статуса, который и контролирует процессы поступления азота в клетки корней. В отличие от нитрата ионы NH_4^+ непосредственно участвуют в синтезе аминокислот. Поэтому можно предположить, что внутренний пул свободных аминокислот, или их качественный состав, определяют тот параметр азотного статуса растения, который является фактором, регулирующим активность транспортной системы аммония (ТСА).

Ранее нами было продемонстрировано зависимость активности ТСА корней кукурузы от качественного состава и количественного содержания минеральных соединений азота в питательной среде [1] и воздействие на активность ТСА экзогенной обработки некоторыми аминокислотами [2]. Целью данной работы было исследование особенностей состава свободных аминокислот в корнях растений кукурузы с активированной и инактивированной ТСА.

Объектами исследования служили 10–14 суточные проростки кукурузы. Для выращивания проростков семена кукурузы предварительно стерилизовали в течение 10 мин слабым раствором KMnO_4 , а затем 3% раствором перекиси водорода. После чего их помещали в чашки Петри, на фильтровальную бумагу, смоченную 0,3% раствором H_2O_2 , и проращивали трое суток в темноте в термостате при 24°C . Проросшие семена в дальнейшем культивировали модифицированным рулонным методом 10–14 суток в водных культурах на питательной среде, за основу которой была выбрана среда Кнопа, но нитрат калия замещен эквимоллярным ко-

личеством хлорида калия. Выделение свободных аминокислот из растительного материала проводилось путем экстрагирования их кипящим 70% этанолом. Для анализа качественного состава и определения содержания отдельных аминокислот использовалась ВЭЖХ (хроматограф Agilent 1200: G1312A с колонками Zorbax Eclipse-AAA (3,0 x 150 мм, 3,5 мкм). Использование колонки Zorbax Eclipse-AAA было определено тем фактором, что достаточно четко происходит разделение пары Asp/Glu. Обработка корней проростков кукурузы экзогенными хлоридом аммония и аминокислотами производилась 10^{-2} М растворами в течение 30 мин. После обработки экзогенными веществами корни кукурузы отмывались водой для удаления примеси экзогенных аминокислот.

Определение суммарного содержания свободных аминокислот в корнях проростков кукурузы, выращенных при варьировании качественного состава и количественного содержания минеральных соединений азота, не выявило явной зависимости активности ТСА с этим показателем. Так у растений выращиваемых на средах с нитратами или солями аммония суммарное содержание свободных аминокислот существенно не различалось, однако в первом варианте ТСА была активирована, а во втором – инактивирована. При выращивании растений в условиях азотного голодания суммарное содержание свободных аминокислот заметно различалось от опыта к опыту (от сопоставимого с вариантом выращивания на нитратном азоте, до вдвое более низкого уровня), между тем эти растения характеризовались активированной ТСА. Вероятно, суммарное содержание свободных аминокислот в клетке не является показателем, определяющим активность ТСА. Отчасти этот вывод подтверждается результатами наших исследований на водорослях *Chlorella vulgaris* и проростках ячменя [3], перевод этих видов растений на условия азотного голодания приводит к существенному снижению содержания свободных аминокислот по сравнению с ростом на полноценных питательных средах, в которых в качестве источника азота используется нитрат калия. Тем не менее, в обоих вариантах ТСА активирована.

Широко известно, что в процессах ассимиляции ионов аммония в растительном организме существенную роль играют синтез глютаминовой кислоты и образование амидов глютаминовой и аспарагиновой кислот – глютамина и аспарагина. Указанные соединения выступают затем источником азота для биосинтеза иных аминокислот и других азотсодержащих соединений. По этой причине в дальнейшем подробно анализировалось содержание указанных веществ в различных вариантах обработки растений, приводящих к изменению состояния ТСА (табл.).

Таблица – Содержание некоторых свободных аминокислот в корнях проростков кукурузы (мг/100 г сырой массы)

вариант	Asp	Asn	Glu	Gln
Рост при дефиците азота	2,3	3,7	9,5	9,7
Обработка хлоридом аммония	1,0	2,6	5,8	13,9
Обработка Asp (через 10 мин после начала отмыва)	4,6	12,8	5,1	10,2
Обработка Asp (через 30 мин после начала отмыва)	3,0	8,9	4,7	3,5
Обработка Gln (через 10 мин после начала отмыва)	2,2	2,2	11,4	14,2

Обработка растений аспарагиновой кислотой, глутамином или хлоридом аммония приводили к инактивации ТСА. При этом в первом и последнем варианте отмечалось резкое изменение соотношения концентраций глутамин и глутаминовой кислоты (Q): в вариантах с инактивированной ТСА оно превышает 2. Причем, 30 мин отмыв растений, после их обработки аспарагиновой кислотой, приводит к восстановлению поглощения аммония корнями кукурузы. При этом отмечается резкое уменьшение как содержания глутамин, так и указанного параметра Q. При обработке глутамином не отмечается резкого возрастания Q, однако общее содержание глутамин приблизительно в полтора раза выше, чем у растений с активированной ТСА.

Полученные экспериментальные данные демонстрируют увеличение внутриклеточной концентрации глутамин относительно глутаминовой кислоты при инактивации ТСА. Возможно, процессы синтеза глутамин и его дезамидирования регулируют работу ТСА.

Литература

1. Цап Т. В., Кудряшов А. П. Поступление ионов аммония внутрь растительной клетки // Журнал МГУП «Вестник»–2007. - №2(3), - с. 117-123.
2. Цап Т. В., Кудряшов А. П. Влияние прединкубации корней кукурузы (*Zea mays*) в среде с аминокислотами на поступление ионов аммония в клетки // Ботаника (исследования) – 2008. – т. 36, – 486-495.
3. Цап Т. В., Кудряшов А. П. Особенности состава свободных аминокислот в растениях, выращенных при варьировании качественных и количественных показателей минерального азотного питания // Вестник МДУ – 2008, – №2-3 (30), – с. 162-168.