

УДК 581.1:632.122.1

**Абдыев В.Б., Касумов Н.А.**

*Бакинский государственный университет (Азербайджан)*

## **ВЛИЯНИЕ ФТОРИСТОГО НАТРИЯ НА ОКИСЛЕНИЕ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТА В РАСТЕНИЯХ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ**

**V. Abdiev, N. Kasumov**

*Baku State Universities, Azerbaijan*

### **INFLUENCE OF FLUORIC SODIUM ON GLUCOSE-6-PHOSPHATE OXIDATION IN PLANTS UNDER SALT STRESS**

*Аннотация.* Изучено влияние специфического ингибитора гликолиза фтористого натрия на окисление глюкозо-6-фосфата в проростках пшеницы при засолении. Обнаружено, что добавление в систему глюкозо-6-фосфата снимает ингибирующее действие фтористого натрия и увеличивает поглощение кислорода. Можно предположить, что ускорение поглощения кислорода после добавления глюкозо-6-фосфата свидетельствует о переключении окислительных процессов в гексозомонофосфатном направлении.

*Ключевые слова:* полярография, онтогенез, гликолиз, глюкозо-6-фосфат, минеральное питание.

*Abstract.* Influence of a specific inhibitor of glycolysis fluoric sodium on glucozo-6-phosphate oxidation is studied in wheat seedlings under salt stress. It is found that addition of glucozo-6-phosphate removes the inhibitor action of fluoric sodium and increases the oxygen absorption. It is possible to assume that acceleration of the oxygen absorption after addition of glucozo-6-phosphate indicates the changeover of oxidative processes in hexosemonophosphate direction.

*Key words:* polarography, ontogenesis, glycolysis, glucose-6-phosphate, mineral nutrition.

При исследовании дыхания нельзя ограничиваться только изучением газообмена. Определение интенсивности дыхания по количеству поглощенного кислорода и выделенной углекислоте является только подходом к изучению сложного комплекса процессов, протекающих при дыхании. Поэтому важно иметь представление и о всех сторонах дыхания растительного организма. В этой связи представляет интерес вопрос о влиянии солей на соотношение различных путей гликолитического и апотомического окисления дыхательного субстрата, в частности глюкозо-6-фосфата. Известно, что у высших растений окисление глюкозы может проходить несколькими путями. Одним из них является гликолиз, он служит анаэробной подготовительной стадией дыхания, заключающейся в цепи последовательных биохимических реакций, приводящих к превращению глюкозы в лактат или пировиноградную кислоту [11; 12]. Гликолиз не является единственным путем окисления углеводов, имеется еще и пентозофосфатный (фосфоглюконатный или апотомический) путь окисления глюкозы. Апотомическое окисление поставляет для клетки разнообразные промежуточные продукты, служащие исходным материалом для биологических синтезов [2; 10; 6].

Несмотря на многочисленные работы по изучению гликолиза в растениях, все же количество работ по данной тематике недостаточно, так как имеются растительные объекты, где катаболизм углеводов или вовсе не изучен или изучен очень слабо, а данные в этих работах противоречат друг другу. Известно, что у высших растений пентозофосфатный путь окисления глюкозы играет довольно существенную роль [8]. Под действием ряда факторов (ингибиторов, ядов, инфекций, влажности, засолении и др.) значение этого пути может или

возрастать, или уменьшаться. В условиях анаэробного гликолиза является единственным путем превращения глюкозы. Апотомическое окисление возможно лишь в присутствии кислорода. Оба эти процесса, т. е. гликолитический и гексозомоно-фосфатный цикл, являются антагонистами. Увеличение скорости реакций гликолитического пути приводит к снижению скорости реакций апотомии. Следует отметить, что на неокислительном этапе пентозофосфатный путь связан с гликолизом (посредством глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата и 3-фосфоглицеринового альдегида), то есть возможно переключение этих процессов [10]. Однако, влияние солей на терминальной фазе (на уровне енолазы) гликолиза в ранних этапах онтогенеза растений изучено недостаточно. Это явилось поводом для проведения ряда экспериментов с целью выяснения енолазной реакции окисления глюкозо-6-фосфата при действии солей.

### Объект и метод исследования

Объектом исследования служили пятидневные проростки пшеницы (сорт Баракетли), выращенные в растворе Кнопа и раствора NaCl при концентрации 50-70 мМ в термостате при 25°C в аэрируемых условиях. Измерение скорости поглощения кислорода корнями проростков осуществлялось полярографической установкой с открытым электродом [3]. Катодом служат тонкие платиновые проволоки диаметром 0,5 мм, вплавленные в стеклянный капилляр. Таким образом, платиновый электрод тщательно изолируется, за исключением самых кончиков, которые на 1-2 мм оставляют открытыми. Платиновый электрод, вплавленный в стеклянный капилляр, контактирует с медной проволокой с помощью ртути. Анодом (неполяризующимся электродом) служит хлорсеребряный электрод, который при помощи KCl-мостика контактирует с жидкой средой, куда помещают растение. Кривая зависимости силы диффузного тока от подаваемого напряжения имеет плато. Для кислорода плато находится между 0,2-0,9 В. На электродах поддерживается раз-

ность потенциалов 0,65 В. Для регистрации возникающих токов использовали гальванометр чувствительностью  $2 \cdot 10^{-7}$  А/дел (М-95). Рабочее пространство ячейки образовано цилиндром глубиной 2 см. Чувствительность нашей установки составляла  $3 \cdot 10^{-7}$   $MO_2$  /л. Чувствительность используемых платиновых электродов проверяли также при помощи метода Винклера, который позволяет определить абсолютное содержание кислорода в воде. Нулевую концентрацию кислорода создавали при заполнении ячейки 1%-ным водным раствором сульфита натрия. Общая блок-схема установки представлена на рис. 1.

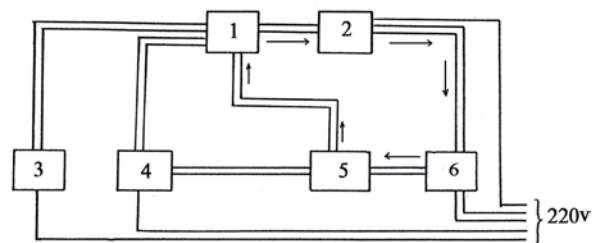


Рис. 1. Общая блок-схема полярографической установки определения поглощения кислорода растениями. 1-электрохимическая ячейка; 2-рН-метр лабораторный; 3-гальванометр зеркальный; 4-ультратермостат; 5-термостатированная кювета с объектом; 6-микронасос

В качестве ингибитора енолазной реакции гликолиза использован фтористый натрий в концентрации 10 мМ, а в качестве дыхательного субстрата – глюкозо-6-фосфат в концентрации  $10^{-3}$ М. Исследования проводились в 8-9-кратной повторности. Цифровые материалы статистически обрабатывались [5]. Показатель точности не превышает пять процентов.

### Результаты и их обсуждение

Предшествующими исследованиями было установлено, что в условиях засоления усиливается аэробный гликолиз [4]. Нами использован специфический ингибитор гликолиза фтористый натрий. Как показали опыты, после введения в систему  $10^{-3}$ М глюкозо-6-фосфата (после установления стац-

онарного уровня скорости поглощения кислорода растениями) происходит ускорение поглощения кислорода приблизительно на 60% (рис.2). Усиление поглощения кислорода корнями растений при действии глюкозо-6-фосфата может быть связано с тем, что глюкозо-6-фосфат является одним из основных субстратов для биологического окисления и в норме способствует усилению дыхания проростков. Через 40-50 минут после действия глюкозо-6-фосфата в систему вводили NaF в концентрации 10 мМ. Как видно из рис.2, добавление фтористого натрия не способствует ускорению поглощения кислорода. Наоборот, при этом поглощение  $O_2$  несколько снижается (~5%). Этот опыт проводился и в обратном порядке – сначала испытывали действие NaF, затем – глюкозо-6-фосфата. В этом случае NaF несколько подавляет поглощение кислорода (~13%), а добавление глюкозо-6-фосфата снимает его ингибирующее действие и усиливает поглощение кислорода на 18% относительно контроля (рис. 3). В последующих экспериментах корневые системы проростков подвергались длительному воздействию солей. С этой целью семена пшеницы замачивали в 50, 60 и 70 мМ NaCl, и корни проростков в течение 5 суток непрерывно находились в солевом растворе.

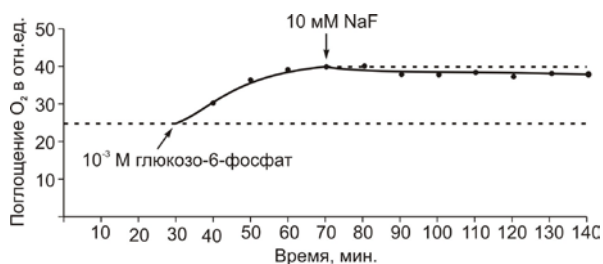


Рис. 2. Кинетическая кривая поглощения кислорода корнями проростков пшеницы при последовательном действии глюкозо-6-фосфата и фтористого натрия ( $t=20^{\circ}C$ )

Мы попытались проследить за изменением соотношения гликолитического и пентозо-фосфатного путей дыхания у растений, произрастающих в условиях хлористого натрия, применяя полное ингибирование одного из

них специфическим ингибитором. Доля гликолитического пути определялась через подавление его фтористым натрием на уровне фермента – енолазы. Торможение активности енолазы фторидом объясняется образованием магний-фтор-фосфатного комплекса, который соединяется с ферментом и вытесняет нормальный активатор последнего – ионы  $Mg^{2+}$  [9]. Из рис. 4 видно, что добавление в систему фтористого натрия подавляет дыхание растений (~37%).

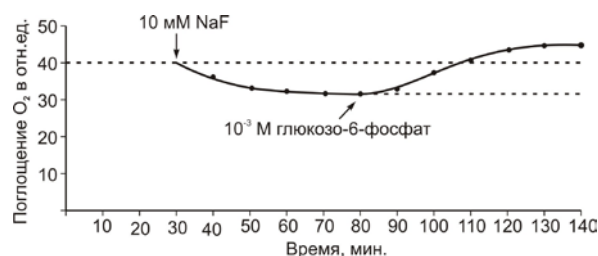


Рис. 3. Кинетическая кривая поглощения кислорода корнями проростков пшеницы при последовательном действии фтористого натрия и глюкозо-6-фосфата ( $t=20^{\circ}C$ )

После блокирования гликолитического пути добавление в систему глюкозо-6-фосфата снимает ингибирующее действие фтористого натрия и увеличивает поглощение кислорода приблизительно на 22% от контроля (рис. 4).

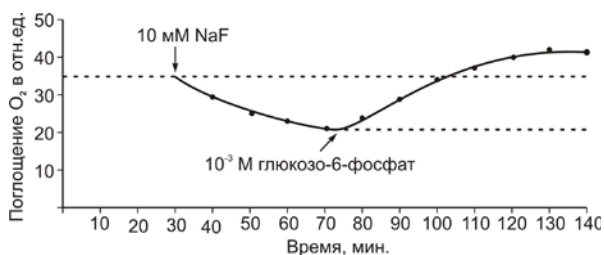


Рис. 4. Кинетика поглощения кислорода корнями проростков при длительном воздействии NaCl в концентрации 50 мМ ( $t=20^{\circ}C$ )

Можно предположить, что резкое ускорение (~64%) поглощения кислорода проростками, находившимися длительное время (5 дней) в солевых растворах, после добавления

глюкозо-6-фосфата свидетельствует о переключении окислительных процессов в гексозомонофосфатном направлении. При этом нетрудно заметить, что введение фтористого натрия снижает поглощение  $O_2$  всего на 12,5% (рис. 5).

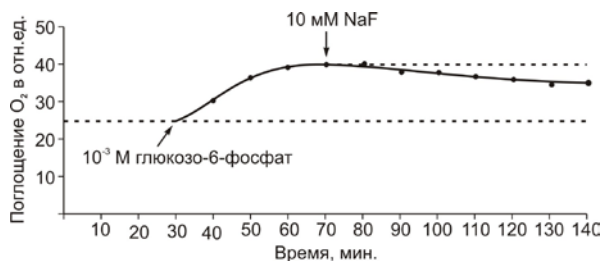


Рис. 5. Кинетика поглощения кислорода корнями проростков пшеницы при длительном воздействии NaCl в концентрации 50 мМ ( $t=20^{\circ}C$ )

Усиление гликолитического пути после действия солей способствует снижению количества исходного субстрата, т. е. глюкозо-6-фосфата в результате ускорения аэробного гликолиза. Следовательно, уменьшение количества метаболита (глюкозо-6-фосфата) переключает окислительный путь в пентозофосфатном направлении. Известно, что при концентрации метаболита, равной  $K_m=10^{-3}$ М, функционирует гликолитический путь, а при концентрации метаболита  $K_m=10^{-4}$ - $10^{-5}$ М функционирует пентозофосфатный цикл. Таким образом, окисление глюкозы по тому или иному пути зависит от содержания субстрата и регулируется на метаболитном уровне [7; 1]. Следует отметить, что при увеличении концентрации хлористого натрия (50-70 мМ) подавление поглощения кислорода корнями растений при действии фтористого натрия усиливается, что свидетельствует о наличии аддитивности в их действия (рис. 6).

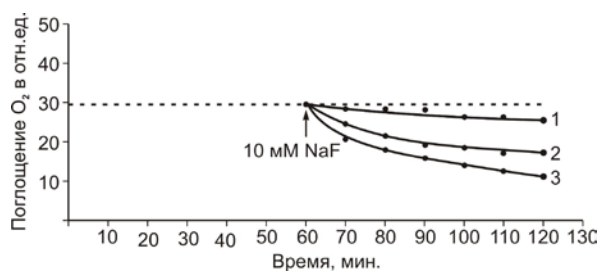


Рис. 6. Кинетическая кривая поглощения кислорода корнями проростков пшеницы в норме и при длительном воздействии NaCl в различной концентрации ( $t=20^{\circ}C$ ). 1) контроль, 2) 50 мМ NaCl, 3) 70 мМ NaCl

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Гасимов Н.А. Физиология растений. Учебник. Баку: Из-во БГУ, 2008. 484 с.
2. Гончарик М.Н. Физиологическое влияние ионов хлора на растения. Минск: Наука и техника, 1968. 252 с.
3. Касумов Н.А. Физиолого-биофизические аспекты исследования механизма действия солей на растительный организм. Баку: Элм, 1983. 141 с.
4. Касумов Н.А. Координация дыхания и гликолиза в клетках растений при экстремальном засолении // Вестник Бакинского университета. 2004. № 1. С. 67-73.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М: Высшая школа, 1990. 293 с.
6. Ленинджер Д. Основы биохимии. Т. 2. М.: «Физматлит», 2005. 274 с.
7. Либберт Э. Физиология растений. М.: Мир, 1976. 580 с.
8. Полевой В.В. Физиология растений. М: «Высшая школа», 1989. 464 с.
9. Рубин Б.А., Ладыгина М.Е. Физиология и биохимия дыхания растений. М.: Изд-во МГУ, 1974. 512 с.
10. Северин Е.С. Биохимия учебник / Под ред. Е.С.Северина. 2е изд-во М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. 784 с.
11. Givan C. Evolving concepts in plant glycolysis; two centuries of progress // Biol. Rev. 1999. V. 74. P. 277-299.
12. Schwender J, Ohlrogge J.B., Shachar-Hill Y. A flux model of glycolysis and the oxidative pentose phosphate pathway in developing *Brassica napus* embryos // J.Biol.Chem. 2003. V. 278. № 32. P. 29442-29453.