

## A növények aminosav készletének változása vízhiány és sós talaj hatására

PÁLFI GÁBOR és JUHÁSZ JÚLIA

József Attila Tudományegyetem Növényélettani és Mikrobiológiai Intézete, Szeged

Hazánkban nagy területeket sorolhatunk az aszályos vidékek közé. A növénytermesztés lehetőségeit az is szűkíti, hogy e területek jelentős részének talaja szikes. Előfordul az is, hogy a talaj felszínén mért sótartalom a 2%-ot is felülmúlja [14]. A talaj nagy sótartalma sok esetben fiziológiai szárazságot idéz elő, a sós-szikes talajon termesztett növényeknél tehát gyakrabban lép fel vízhiány. A gyakorlattal összefüggő feladatnak látszik megvizsgálni, hogy a vízhiány milyen változásokat idéz elő a növények szabad aminosav összetételében.

A növények aminosav spektrumában a külső és belső viszonyok változásai hatására nagy eltéréseket találhatunk. Az összes aminosav mennyisége egyes esetekben sokszor 200–300%-os különbséggel jelentkezik [6, 7]. A savamidok még nagyobb eltéréseket mutatnak. Az összes aminosav, vagy az amidok mennyiségéből azonban nem lehet biztonsággal következtetni a növények élettani állapotára, mert nemcsak a jó tápanyagellátás, hanem a fehérjeszintézishez kedvezőtlen körülmények következtében is felszaporodhatnak. Ez utóbbi esetben, mint már megállapítottuk [8, 10], a szabad aminosavak közt a pipecolinsav megjelenése a legyöngült fiziológiai állapot indikátora. A pipecolinsav nem fehérje-alkotó aminosav, de mint néhány növénynél kimutattuk (rizs, burgonya, szójabab, dohány), a baktériumos, gombás vagy vírusos fertőzés tünetcineik megjelenésekor már jelentős mennyiségben szerepel [9].

Kísérletünk során néhány növény szabad aminosav összetételében olyan mutatót kerestünk, amely tipikusan vízhiány esetén lép fel. Majd megvizsgáltuk néhány fiziológiailag aktív anyagnak a vízhiány okozta aminosav változásokra gyakorolt hatását. Kísérleteket végeztünk annak kiderítésére, hogy a talaj nagy sótartalma következtében fellépő fiziológiai szárazság is hasonló aminosav változásokat idéz-e elő, mint a esapadék vagy öntözés hiánya.

A hajtásról levágott levél, ha azonnal nem fixálják, lassan hervad, de tovább él. Az izolált levél anyagcseréje azonban eltér a normálistól. Vizsgálatainkat a levágott levelek hervadás alatti szabad aminosav változásokra is kiterjesztettük.

### Anyag és módszer

Kísérletünkben kapszaicin mentes fűszerpaprika (57–13), búza (*Bezostája I*), dohány (*Szabolcsi*), rizs (*Dunghan shali*), *Solanum laciniatum* Ait., és bab (*Black prinz*) leveleit vizsgáltuk.

Tartósan aszályos időjárás idején vett szabadföldi növények leveleit hasonlítottuk össze az öntözött kontrollal, vagy tenyészédes-talajkultúras növényeknél vontuk meg a vizet, a kontrollt pedig öntöztük.

A talaj sótartalmának növelésére olyan 0,1 n NaCl (1000 rész) MgCl<sub>2</sub> (78 rész), MgSO<sub>4</sub> (38 rész), KCl (22 rész) és CaCl<sub>2</sub> (20 rész) oldatból összeállított Van't Hoff-féle kiegyensúlyozott oldatot használtunk, melynek összes só tartalmát Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-tal 2%-ra emeltük. Ezt a 6-os pH-értékű oldatot szikes közegként már alkalmaztuk [5].

Izolált levélből néhányat a levágáskor azonnal fixáltunk (kontrol), a többi 22 C°-on, napi 12 órás megvilágítás mellett tartottuk és hervadásuk során naponta néhány levelet ugyancsak fixáltunk. Egy másik levélsoportot állandóan sötétben tartottunk s belőlük néhányat naponta szintén fixáltunk.

Az 50%-os alkoholos levélkivonatok aminosav analíziseit felszálló egy- és két-dimenziós papírkromatográfiával végeztük. A gyors előzetes vizsgálatok során cellulóz-rétegekromatográfiával is dolgoztunk. Szolvensnek butanol-ecetsav-víz (2 : 1 : 1) és fenol-alkohol-víz (3 : 1 : 1) elegyét használtuk. Az egydimenziós papírok futását hűtéssel lassítottuk (0 — +5 C°-on, 48 óra). Az előhívást ninhidrinnel végeztük SZALAI szerint [15], és izatinnal (1 rész izatin, 100 rész metanol, 1 rész ecetsav). A mennyiségi meghatározásoknál alkalmazott sztenderd-eluációs módszert már leírtuk [6, 8]. Az oldható összproteint LOWRY et al. [4] szerint mutattuk ki Folin-féle reagenssel és spektrofotométeren mértük. A fehérjehidrolíziseket 5 n sósavval 105 C°-on végeztük 24 órán át, a mintákat üvegcsőbe forrasztva.

### Kísérleti eredmények

A rétegekromatográfiás vizsgálatok során kiderült, hogy a vízhiányban szenvedő növények leveleinek összes aminosav tartalma sokkal nagyobb, mint a vízzel jól ellátott növényeké. A sav-amidok, vagyis a glutamin és az aszparagin mennyisége is lényegesen gyarapodik. Ezek az eltérések hasonlítanak a beteg növényeknél észlelt változásokhoz, az egészségesekhez képest [1, 9, 17]. Egy jellegzetes megkülönböztető vonást azonban találtunk: a vízhiányban szenvedő növények rendkívül nagy prolin koncentrációját.

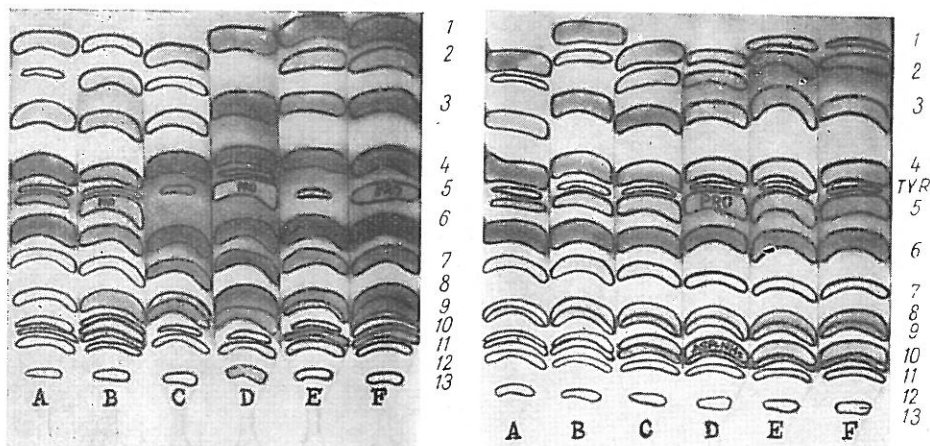
Az 1. ábra a *Solanum laciniatum*, a paprika és a búza kivonatainak papírkromatogramját mutatja. A vízhiányos változatok nagy prolin foltjai azonnal szembetűnnek. A vízzel jól ellátott kontrolok kis prolin foltjai 4—5 µg-nak felelnek meg, a vízhiányos növényeknél viszont ennek 10—20 szorosát találtuk (1. táblázat).

A 2. ábra levágott, hervadó *Solanum laciniatum* levelek naponta fixált változatainak aminosav képét szemlélteti. Az „A” csíkon a vízzel jól ellátott és a levágáskor azonnal fixált levelek kivonata szerepel (kontrol). Látható, hogy a hervadás időtartamának növekedésével párhuzamosan nő a prolin mennyisége is.

Szabadföldi növényeknél (dohány, paprika) nyári, csapadékmentes, aszályos időjárás alatt naponta öntöztünk, majd az egyik változatnál beszüntettük az öntözést. Tenyészédes, talajkultúras növényeknél a kísérlet kezdetétől csak a kontrollt öntöztük (paprika, búza). Más növényeknél az egyszerre levágott nagyobb tömegű levélből ugyancsak naponta fixáltunk (*Solanum laciniatum*, dohány; a rizsnél gyökerestől kiemelt hajtások her-

vadtak). A kontrol minden esetben a vízzel jól ellátott növények levágáskor azonnal fixált leveleinek kivonata volt. A prolin mennyiségek adatai az 1. táblázatban láthatók.

Az 1. táblázatból kitűnik, hogy mind a vízhiányban szenvedő ép növényeknél, mind pedig a levágás után hervadó leveleknél fellép a prolin nagymértékű gyarapodása. Az is megállapítható, hogy a vízhiány fokozódásával rohamosan nő a prolin mennyisége.



1. ábra

Vízhiányban szenvedő és vízzel jól ellátott növények leveleinek szabad aminosavai. A) *Solanum laciniatum*, öntözött; B) *Solanum laciniatum*, vízdeficites; C) Paprika, öntözött; D) Paprika, vízdeficites; E) Búza, öntözött; F) Búza, vízdeficites.

2. ábra

Izolált, hervadó *Solanum laciniatum* levelek szabad aminosavai. A) a levágáskor azonnal fixált levelek (kontrol); B), C), D), E), F) a levágás után 1, 2, 3, 4 és 5 napos hervadás után fixált levelek kivonatai.

1 = Leu; 2 = Phe; 3 = Val + Met; 4 =  $\gamma$ -Amb; 5 = Pro; 6 = Ala; 7 = Glu + Thr; 8 = Ser + Gly; 9 = Asp + Glu-NH<sub>2</sub>; 10 = Asp-NH<sub>2</sub>; 11 = His; 12 = Lys; 13 = Cys

A levágott *Solanum laciniatum* leveleinek hervadás alatti aminosav változásait 15 napig vizsgáltuk fényben és sötétben. A napi 12 órán megvilágított változat a teljes kiszáradásig (15 nap) tartotta az 5 nap alatt kialakult nagy prolin koncentrációt. Az állandóan sötétben tartott változat prolin tartalma 5 napig szintén rohamosan emelkedett, azután fokozatosan csökkent és a 15. napra a levágáskor azonnal fixált változat (kontrol) szintjére csökkent.

Dohány és paprika növényeken azt is megvizsgáltuk, hogy a tartós vízhiány esetén fellépő nagy prolin koncentráció az öntözéssel optimálissá tett vízellátás hatására csökken-e? Kiderült, hogy a levelek prolintartalma az öntözés hatására a normális szintre csökken, de csak a jó vízellátás kezdetétől számított 4–6 napra.

Fehérjehidrolizises vizsgálataink során azt találtuk, hogy a sok szabad prolin nem fehérje eredetű. Ugyanis az izolált, hervadó levelek fehérjéinek aminosav összetételében — mely teljesen megegyezett az öntözött növények levágáskor azonnal fixált leveleinek aminosav spektrumával — a prolin mennyisége azonos volt.

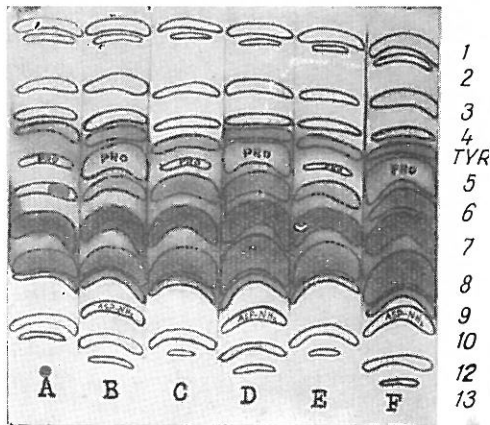
1. táblázat

## Néhány növény levelének vízhiány következtében megnagyobbodott prolintartalma

(1) Növények	(2) Kontrol, öntözött növények levágáskor fixált levelei	(3) Napok száma a víz- megvonás kezdetétől		
		1	3	5
mg/g száraz-anyag				
a) Paprika ( <i>Capsicum annum</i> L.) tenyészedenyes	0,68 ±0,026	1,58 ±0,06	6,18 ±0,284	8,70 ±0,42
b) Paprika ( <i>Capsicum annum</i> L.) szabadföldi	0,52 ±0,022	1,04 ±0,044	4,52 ±0,18	6,44 ±0,284
c) Dohány ( <i>Nicotiana tabacum</i> L.) szabadföldi	0,96 ±0,042	2,82 ±0,122	11,16 ±0,54	22,48 ±0,98
d) Dohány ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) levágott hervadó levelek	0,74 ±0,038	2,36 ±0,114	9,82 ±0,46	13,26 ±0,60
e) <i>Solanum laciniatum</i> Ait., levágott hervadó levelek	0,76 ±0,032	1,24 ±0,058	4,74 ±0,22	14,22 ±0,66
f) Búza ( <i>Triticum vulgare</i> L.) tenyészedenyes	0,24 ±0,014	0,38 ±0,016	0,84 ±0,042	1,76 ±0,08
g) Rizs ( <i>Oryza sativa</i> L.) hervadó hajtások levelei	0,28 ±0,016	0,54 ±0,022	1,15 ±0,06	1,14 ±0,054

A 2. táblázat azt mutatja, hogy az alkalmazott aktív anyagok közül, csak a 2,4-DNP permetezés hatására nem lépett fel a nagy prolin koncentráció a vízhiány következtében.

A tenyészedenyes paprika talajának 2%-os sóoldattal való elszikesítését 50-napos korában kezdtük el, 3 ismétlésben. A kontrolokat csapvízzel öntöztük. 12, 17 és 22 nap múlva vettünk levélmintákat, az elszikesítéstől számítva.



3. ábra

Sós vízzel szikesített talajú, tenyészedenyes paprika növények leveleinek aminosavai. A) 62 napos növény, nem szikes (kontrol); B) 62 napos növény, szikes; C) 67 napos növény, nem szikes; D) 67 napos, szikes; E) 72 napos növény, nem szikes; F) 72 napos, szikes. (1–13. lásd 1. ábrát)



2. táblázat

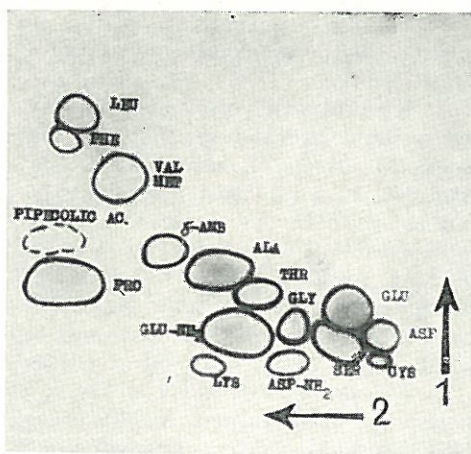
A kinetin, gibberellin és antimetabolitok hatása az izolált, hervadó levelek prolin tartalmára 48 óra alatt (mg/g száraz-anyag)

(1) Növények	(2) Kontrol viz	Kinetin	Gibberellin	Kinetin + Gibberellin	2,4-DNP	i-barbitursav	8-azaadenin
		koncentráció, ppm					
		10	50	10 + 50	100	100	5
a) Bab (Phaseolus vulgaris)	2,82 ±0,13	2,76 ±0,126	2,68 ±0,124	2,64 ±0,12	0,44 ±0,02	3,06 ±0,14	2,78 ±0,136
b) Dohány (Nicotiana tabacum)	6,69 ±0,30	6,38 ±0,28	6,32 ±0,26	6,42 ±0,32	0,88 ±0,038	6,60 ±0,34	7,12 ±0,34
c) Paprika (Capsicum annuum)	3,24 ±0,12	3,16 ±0,12	3,52 ±0,14	2,96 ±0,10	0,66 ±0,032	3,32 ±0,12	3,20 ±0,14
d) Búza (Triticum vulgare)	0,70 ±0,032	0,82 ±0,032	0,68 ±0,03	0,78 ±0,03	0,18 ±0,008	0,72 ±0,03	0,82 ±0,036

A 3. ábrán látható, hogy a sós változatok prolin tartalma jelentős mértékben meghaladja a kontrolokét. A Van't Hoff-féle sóoldattal öntözött talajon termesztett paprika tehát ugyancsak a vízhiányban szenvedő növények aminosav képét mutatja, nemcsak a nagy prolin tartalomban, hanem a kontrollhoz képest nagyobb összes aminosav, illetve savamid tartalomban is. Feltűnő, hogy az aszparagin csak a sós változatokban jelent meg, ugyanakkor a glutamin is nagy mértékben gyarapodott. Ezt főleg a 4. ábra szemlélteti — a második dimenzióban ugyanis a glutamin elválnak a glicin, a szerin és az aszparaginsav komplex foltjától — s így láthatóvá válik, hogy a prolin után a glutamin adja a legnagyobb foltot. A két-dimenziós kromatogramon a pipecolinsav is feltűnik. Már közöltük [9, 10], hogy a pipecolinsav a legyengült fiziológiai állapot, illetve a fehérjeszintézis zavarának jelzője. A jelen eset tisztázására a 72 napos paprikák leveleiből meghatároztuk az összes oldható protein

4. ábra

Sós vízzel szikesített talajú, tenyészedényes paprika növények (72 napos) leveleinek aminosavai. Rétegekromatogram



mennyiségeket. A szikesnél 32,0 mg ( $\pm 1,2$ ), a kontrolnál pedig 38,6 mg ( $\pm 1,0$ ) fehérjét találtunk, 1 g friss anyagra vonatkoztatva. A szikes paprikánál tehát csökkent a fehérjeszintézis.

A tenyészédesényes babnövények talajának elszikesítését a kelés utáni 3. napon kezdtük. Primer leveleinek aminosav analízisét 15 napos korukban végeztük. Kiderült, hogy a fiziológiai szárazság hatására a babnál is megjelenik a magas prolin koncentráció, és emellett jelentős mennyiségű pipecolinsavat is kimutattunk.

Megvizsgáltuk azt is, hogy a nagy sótartalmú vízzel történő többszöri öntözés után a növények valóban vízhiányban szenvednek-e? A csapvízzel és a sós vízzel öntözött paprika változatokból 10–10 növény szárát a talaj fölött elvágtuk és a csonkokra könnyezési nedvgyűjtő csöveket szereltünk. 24 órás könnyeztetés után a csapvízes változatokból 11,5 ml könnyezési nedvet gyűjtöttünk be, a sós talajú paprikanövények ugyanakkor egyáltalán nem könnyeztek. Ezzel bebizonyosodott, hogy a sós talajon termesztett növények vízdeficitje jelentős.

### Az eredmények értékelése

Hatféle, vízhiányban szenvedő növény leveleinek aminosav tartalmát vizsgáltuk. A szabadföldi növények vízdeficitjét aszályos időjárás, tenyészédesényes növényeknél az öntözés megvonása, vagy az öntözővíz, illetve a talaj sótartalmának nagymértékű növelése idézte elő. Mind a hatféle növényenél a glutamin és az aszparagin nagymértékű gyarapodását mutattuk ki, vízhiány hatására, de nőtt az összes aminosav mennyisége is.

Ez az aminosavképek hasonlít a betegség vagy egyéb kedvezőtlen körülmény következtében kialakult aminosav tartalomhoz. Egy jellemző vonás alapján azonban élesen megkülönböztethető attól: vízhiány hatására a növények levelének prolin tartalma 4–5 nap alatt a normális mennyiségnek 10–20 szorosára emelkedik, kivéve a búza és rizs növényeket, ahol ez a növekedés kisebb mértékű.

A növényekről levágott lassan hervadó levelek aminosav spektruma is megegyezik a vízhiányos növények leveleinek aminosav képével, a nagymértékben megnövekedett prolin tartalomban is. Ebből arra következtethetünk, hogy az izolált levelekben fellépő károsító tényezők egyike a vízhiány lehet.

Kimutattuk, hogy a vízhiány hatására keletkezett szokatlan nagymennyiségű prolin nem fehérje eredetű. Ez arra utal, hogy a vízhiányban szenvedő növények sok prolinja de novo keletkezett, feltehetően szénhidrátokból. E gondolatot alátámasztja az izolált, sötétben hervadó leveleknél kapott eredmény is. E kísérletnél az első 5 nap alatt kialakult nagy prolin-koncentráció a következő 10 nap alatt fokozatosan a kontrol szintjére csökkent. A prolinszintézis, feltehetően fotoszintézis hiányában a szénhidrátok rohamos fogyásával állt le. STEWART és munkatársai [12] néhány növényen megállapították, hogy a növények annál több prolint halmoznak fel hervadásuk alatt, minél nagyobb a cukor- és keményítő tartalmuk.

Az alkalmazott aktív anyagok közül csak a 2,4-dinitrofenol csökkentette a nagy prolintartalmat izolált levelek hervadása során. Ez egybevág azon feltevésünkkel, hogy a hervadás alatt a sok prolin a cukrok oxidációja során

keletkezik, ATP részvételével,  $\alpha$ -ketoglutársavon keresztül. Az oxidatív foszforilálást azonban a 2,4 DNP szétkapcsolja, a prolinszintézis ezért áll le.

A kinetin az izolált leveleknél a normális anyagcserefolyamatok fenntartása irányában hat, a prolin abnormális felszaporodását azonban nem antagónizálta. E tekintetben ugyancsak eredménytelen volt a gibberellin, valamint a kinetin-gibberellin kombináció alkalmazása is.

Bár a tenyésztedényes elszikesített talajú paprikán és babon nyert eredmények nem értékelhetők át szabadföldi viszonyokra, GOAS [2] vizsgálatai megerősítik azokat. Szerző tengerparti sós és erősen sós talajon termő halofita növények aminosavait tanulmányozta. Megállapította, hogy e növények prolin tartalma abnormálisan nagy. A két változat közül az erősen sós talajon termő növények prolin tartalma volt a nagyobb. Kétségtelen tehát, hogy a sok só a közeg ozmózis nyomásának növelésével fiziológiai szárazságot idéz elő, amelynek élettani jelzője a levelek megnövekedett prolin koncentrációja. Még meg kell említeni, hogy a hazai nagy sótartalmú szódás-szikeseken a fiziológiai szárazság mellett a közeg magas pH-értéke még súlyosabb károsító tényező [14].

SVEDSZKAJA és KRUZSILIN [13], valamint TRIONE és munkatársai [16] búza jarovizációja során ugyancsak nagymennyiségű prolint mutattak ki, amit a hidegkezelés következményének tulajdonítanak. Az alacsony hőmérséklet, mint ismeretes, a talaj nagy sótartalmához hasonlóan, szintén fiziológiai szárazságot idézhet elő.

A növények szabad aminosavai közt fellépő abnormálisan nagymennyiségű prolinról többoldalú vizsgálatunk eredményei szerint feltétlenül vízhiányra lehet következtetni. E tény a gyakorlatban az öntözéses növénytermesztésben lehet majd felhasználni az időszakos öntözés időpontjának megállapítására. Természetesen a prolin növekedésének arányait, összefüggésben a vízhiány fokával, illetve a talajnedvesség mértékével — még tanulmányozni kell.

Felmerül az a gondolat is, hogy a növények vízhiány esetén fellépő nagymennyiségű prolinja valamiféleképpen kapcsolatban lehet a szárazságtűréssel is. Ezt támasztja alá HUBAC [3] eredménye. Szerző desztillált vízben (kontrol) és prolin 3%-os vizes oldatában repcemagvakat áztatott 20 órán át. Majd a 6,4%-os víztartalomra exsiccatorban kiszáritott magvakat csíráztatta. A kontrol növények 20 óra, a prolinnal kezelték pedig csak 56 óra múlva pusztultak el.

A vízhiány hatása a levelek külsején öregedési tüneteket vált ki: SINGH és munkatársai [11] a teljesen kifejlett rizshajtások leveleinek aminosav képét vizsgálták, a leveleket koruk szerint csoportosítva. Adataikból kiderül, hogy a prolin mennyisége az idős levelekben dominál.

### Összefoglalás

Paprika, dohány, *Solanum laciniatum*, búza, rizs és bab növények levelein a vízhiánynak a szabad aminosavak összetételére gyakorolt hatását vizsgáltuk.

1. Megállapítottuk, hogy vízdeficit hatására az össz-aminosav, valamint a glutamin és az aszparagin mennyiségének gyarapodása mellett a prolin rendkívül nagymértékű növekedése a jellemző.

2. Nemcsak az ép, szabadföldi, vagy tenyésztedényes növények víz-



hiánya esetén lép föl a levelek nagy prolintartalma, hanem a növényekről levágott leveleknél is, lassú hervadásuk alatt. Ebből következik, hogy az izolált, hervadó leveleknél fellépő károsító tényezők egyike a vízhiány lehet.

3. A levelek rendellenesen nagy prolin koncentrációja az öntözővíz, illetve a talaj nagy sótartalma esetén is fellép. A prolinszint emelkedése tehát a fiziológiai szárazságot is jelzi. Azt is kimutattuk, hogy a sós talajon termesztett növények leveleinél az oldható összprotein mennyisége csökken a kontrollhoz képest. A sós változatnál a fehérjeszintézis zavarát az aminosavak közt a pipercolinsav megjelenése is alátámasztotta.

4. A vízhiányban szenvedő ép növények leveleinek nagy prolin koncentrációja az újraöntözés hatására a normális szintre száll, de csak az optimális vízellátás kezdete után 4–6. npra.

5. Az alkalmazott aktív anyagok közül csak a 2,4-dinitrofenol állította le a hervadás alatti nagy prolinszintet. Ami arra utal, hogy hervadás alatt a sok prolin a cukrok oxidációja során keletkezik az  $\alpha$ -ketoglutarát és  $\text{NADPH}_2$  révén. Az oxidatív foszforilálást azonban a 2,4-DNP szétkapcsolja. A vízdeficit során fellépő sok prolin de novo szintézisét támasztja alá a fehérje-hidrolízisek során nyert eredmény is.

6. A hervadó levelek permetezésére alkalmazott gibberellin és kinetin nem antagonizálta a prolin abnormális felhalmozódását, még együttes permetezésük esetén sem, de e tekintetben az i-barbitursav és a 8-azaadenin gátló hatása sem érvényesült.

### Irodalom

- [1] FARKAS, G. L. & KIRÁLY, Z.: Amide metabolism in wheat leaves infected with stem rust. *Physiol. Plantarum*. **14**. 344–353. 1961.
- [2] GOAS MARIE, L.: Contribution à l'étude du métabolisme azoté des halophytes. Acides aminés et amides libres d'*Aster tripolium* L. C. R. Acad. Sci. Paris. **D 263**. 260–263. 1966.
- [3] HUBAC, C.: Accroissement, chez des plantules, de la résistance à la dessiccation par action préalable de la proline. C. R. Acad. Sci. Paris. **D 264**. 1286–1289. 1967.
- [4] LOWRY, O. H., ROSENBRUGH, N. J. ET AL.: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**. 265–275. 1951.
- [5] PÁLFI, G.: A termesztett növények csirázása szikes közegben. *Növénytermelés*. **9**. 359–368. 1960.
- [6] PÁLFI, G.: Összefüggés a rizs levélszintenkénti aminosav koncentrációja és a nitrogén táplálás foka között. *Agrokémia és Talajtan*. **13**. 299–310. 1964.
- [7] PÁLFI, G.: Relations between abundant N-supply and the amino acid concentration of various leaf levels of rice plants. *Plant & Soil*. **23**. 275–284. 1965.
- [8] PÁLFI, G.: O pokazateljah fiziologiceszkogo szosztojanija pri vübere usztojesivüh k zaboivanijam szortov risza. *Fiziol. Rasztt*. **13**. 892–898. 1966.
- [9] PÁLFI, G.: A beteg rizs, szója, burgonya és dohánynövények rendellenes aminosav anyagcseréjének új, közös indikátora. *Agrokémia és Talajtan*. **16**. 645–652. 1967.
- [10] PÁLFI, G.: Aminosäuren-Assimilation einiger Bakterien und ihre Verwendung zum Nachweis einer unbekanntes Verbindung. *Naturwissenschaften*. **54**. 444–445. 1967.
- [11] SINGH, M., KUMAZAWA, K. & MITSUI, S.: Comparative study of amino acids and amides in relation to asparagine appearance at the panicle formation stage of rice crops. *Soil & Plant Food*. **6**. 16–18. 1960.
- [12] STEWART, C. R., MORRIS, C. J. & THOMPSON, J. F.: Changes in amino acid content of excised leaves during incubation II. Role of sugar in the accumulation of proline in wilted leaves. *Plant Physiol*. **41**. 1585–1590. 1966.
- [13] SVEDSZKAJA, Z. M. & KRUSZILIN, A. Sz.: Izmenenie szoderzsaniija prolina v proceszse jarovizácii i differenciacii tocesek rosztia dvuhletnih i ozimüh rasztenij. *Fiziol. Rasztt*. **13**. 850–858. 1966.



- [14] SZABOLCS, I.: Szikes talajok a Nyírségen. Szikesek Nyiregyháza környékén. *Agrokémia és Talajtan*. **16**. 525—540. 1967.
- [15] SZALAI, I.: Fotometrische Bestimmung des Gesamtaminosäurespiegels im Kartoffelsaft mittels der Ninhhydrinreaktion. *Acta Biol. Szeged*. **3**. 33—40. 1957.
- [16] TRIGONE, E. J., YOUNG, J. L. & YAMAMOTO, M.: Free amino acid changes associated with vernalisation of wheat. *Phytochemistry*. **6**. 85—91. 1967.
- [17] UBRIZSY, G.: Növénykörtan. I. Akadémiai Kiadó. Budapest. 1965.

Érkezett: 1968. február 27.

## The Change of the Amino Acid Reserves of Plants due to the Effect of Water Deficiency and Saline Soil

G. PÁLFI and J. JUHÁSZ

Plant Physiology and Microbiology Department of the József Attila University, Szeged (Hungary)

### Summary

The effect of water deficiency was studied on the free amino acid composition of the leaves of paprika (*Capsicum annuum* L.), tobacco (*Nicotiana tabacum* L.), *Solanum laciniatum* Ait., wheat (*Triticum vulgare* L.), rice (*Oryza sativa* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants.

1. It was established that on the effect of water deficiency, apart from the rise in the quantity of the total amino acid as well as glutamine and asparagine, the extraordinary increase of proline could be observed.

2. The high proline content of the leaves occurred not only in the case of the water deficiency of the intact-, field-, or glasshouse plants but also during the slow wilt of the leaves cut from the plants. It follows from this that the damaging factor occurring at the isolated wilting leaves is, in the first place, water deficiency. The proline synthesis of the wilting leaves in light and in dark had different results. The plant kept in light saved the high proline concentration formed during 5 days until absolute drying. The proline content of the plant incubated all the time in the dark, also increased rapidly during the first 5 days but after this it decreased gradually to the level of the control. One may conclude from this, that the proline quantity was formed from carbohydrates, and the carbohydrates of the dark variation were used up in a few days due to the lack of photosynthesis.

3. The unusually high proline concentration occurs also if the salt content of the irrigation water and of the soil is high. The increase of the proline level indicates therefore physiological dryness, too. It has also been demonstrated that the soluble total protein of the leaves of plants cultivated on saline soil decreases compared to the control. The disturbance of protein synthesis is demonstrated also by the appearance of pipercolic acid among the free amino acids in the saline soil variation. This amino acid which does not constitute protein may be found in significant amounts in affected plants or in those which are in a weakened physiological state.

4. The high proline concentration of the intact plants, which are deficient in water, is lowered to the normal level on the effect of re-irrigation but only 4—6 days after the water supply becomes optimal.

5. From among the used active materials only 2,4-dinitrophenol stopped the high proline synthesis during the wilting. This indicates that much proline is formed during the wilting, in the course of the oxidation of sugars due to the effect of  $\alpha$ -ketoglutarate and NADPH<sub>2</sub>. However the oxidative phosphorylation is separated by the 2,4-DNP. The de novo synthesis of the much protein arising during the water deficiency is also corroborated by the result obtained in the course of protein hydrolysis.

6. As regards the abnormal proline accumulation, gibberellin and kinetin used for spraying of wilting leaves were not antagonistic not even in the case of simultaneous spraying, and the inhibiting effect of barbituric acid and 8-azaadenin was not significant either.

Table 1. The proline content of a few plants increased in consequence of water deficiency (mg/dry material). (1) Plants a) paprika, pot experiment; b) paprika, field

experiment; *c*) tobacco, field experiment, *d*) tobacco, cut wilting leaves, *e*) Sol. laciniatum, cut, wilting leaves, *f*) wheat, pot experiment, *g*) rice leaves of wilting shoots; (2) Leaves of irrigated plants fixed at cutting. (3) The number of the days from the stopping of the water supply.

*Table 2.* The effect of kinetin, gibberellin and antimetabolites on the proline content of the isolated wilting leaves during 48 hours (mg/g dry material).

*Figure 1.* The free amino acids in the leaves of plants suffering from water deficiency and plants well supplied with water. *A*) Solanum laciniatum, irrigated; *B*) Solanum laciniatum, water deficient; *C*) Paprika, irrigated; *D*) Paprika, water deficient; *E*) Wheat, irrigated; *F*) Wheat, water deficient.

*Figure 2.* The free amino acids in the isolated wilting leaves of Solanum laciniatum. *A*) The extracts of leaves fixed immediately at cutting. (control). *B*), *C*), *D*), *E*), *F*), the extracts of leaves fixed after 1, 2, 3, 4, 5, days of wilting after cutting.

*Figure 3.* The amino acids in the leaves of paprika plants cultivated on soil salinized by salt water. *A*) 62-day-old plant, non saline soil, (control); *B*) 62-day-old plant, saline soil; *C*) 67-day-old plant, non saline soil; *D*) 67-day-old plant, saline soil; *E*) 72-day-old plant, non saline soil; *F*) 72-day-old plant saline soil.

*Figure 4.* The amino acids in the 72-day-old paprika plants cultivated in pot on a soil salinized by salt water. Thin layer chromatogram.

## Changement de la teneur des plantes en aminoacides sous l'effet de la carence d'eau et du sol salin

G. PÁLFI et J. JUHÁSZ

Chaire de Physiologie végétale et de Microbiologie de l'Université A. József, Szeged (Hongrie)

### Résumé

L'auteur a examiné l'effet de la carence d'eau sur la constitution des aminoacides libres des feuilles de paprika, (*Capsicum annuum* L.), de tabac (*Nicotiana tabacum* L.), de *Solanum laciniatum*, de blé (*Triticum vulgare* L.), de riz (*Oryza sativa* L.) et de phaseole (*Phaseolus vulgaris* L.).

1. Il a établi que l'effet de la carence d'eau est caractérisé par l'accroissement de la quantité globale des aminoacides, de la glutamine et de l'asparagine d'une part, et d'autre part par l'accroissement extraordinaire élevé de la proline.

2. La haute teneur des feuilles en proline par l'effet de la carence d'eau ne survient pas seulement dans les plantes cultivées en pleine terre ou en pots, mais aussi dans les feuilles détachées des plantes, pendant leur flétrissage lente. Il s'ensuit que le facteur nocif agissant dans les feuilles isolées, flétries est l'effet en premier lieu de la carence d'eau. La synthèse de proline des feuilles flétrissant à la lumière et à l'obscurité a été différente. Dans les feuilles éclairées la haute concentration en proline établie en 5 jours s'est maintenue jusqu'au dessèchement complet. Dans les feuilles tenues constamment à l'obscurité la teneur en proline s'est aussi accrue rapidement pendant 5 jours, pour tomber en suite lentement au niveau du contrôle. De ce fait l'on peut conclure à ce que la grande quantité de proline s'est formée d'hydrates de carbone, dans la variété tenue à l'obscurité les hydrates de carbone se sont épuisés par manque de photosynthèse.

3. La teneur anormalement haute en proline des feuilles survient aussi dans le cas d'une haute salinité de l'eau d'irrigation ou du sol. L'accroissement du niveau de la proline marque donc aussi la sécheresse physiologique. L'auteur a aussi démontré que dans les feuilles des plantes cultivées en sol salin la quantité globale des protéines solubles est moindre que dans le contrôle. Dans la variété à sol salin le trouble de la synthèse des protéines est aussi indiqué par l'apparition de l'acide pipecolinique. Cet acide qui ne fait pas part des protéines se trouve en quantité notable dans les plantes en condition physiologique affaiblie ou infectées.

4. La haute teneur en proline des feuilles des plantes manquant d'eau s'abaisse au niveau normal en cas d'arrosage, mais seulement 4 à 6 jours après le commencement de l'approvisionnement optimal en eau.

5. Parmi les corps actifs le 2,4-dinitrophénol seul a empêché la synthèse considérable de la proline pendant le flétrissage. Cela porte à supposer que pendant le

flétrissage la grande quantité de proline est formée par l'oxydation des sucres par la voie de l' $\alpha$ -ketoglutarate et le NADPH<sub>2</sub>. Mais la phosphorylation oxydative est disloquée par 2,4-DNP. La synthèse nouvelle de la grande quantité de proline se formant pendant la carence en eau est supportée aussi par le résultat obtenu au cours des hydrolyses des protéines.

6. La gibberelline et la kinetine employées à asperger les feuilles en voie de flétrissement n'ont pas eu d'effet antagonistique sur l'accumulation anormale de la proline, même dans le cas de leur emploi ensemble, mais sous ce rapport l'effet antagonistique de l'acide i-barbiturique et de la 8-azaadénine ne s'est pas affirmé non plus.

*Fig. 1.* Aminoacides libres des feuilles de plantes bien pourvues d'eau et souffrant d'une carence d'eau. *A)* Solanum laciniatum, arrosé; *B)* Solanum laciniatum, carence d'eau; *C)* paprika, arrosé; *D)* paprika, carence d'eau; *E)* blé, arrosé; *F)* blé, carence d'eau.

*Fig. 2.* Aminoacides libres de feuilles isolées, flétries de Solanum laciniatum. *A)* Feuilles fixées immédiatement lors de l'ablation (contrôle); *B), C), D), E), F)* extraits des feuilles fixées après un flétrissage de 1, 2, 3, 4 et 5 jours.

*Fig. 3.* Aminoacides des feuilles de plantes de paprika cultivées en pots dans un sol salinisé avec de l'eau salée. *A)* Plante de 62 jours, non salin (contrôle); *B)* plante de 62 jours, salin; *C)* plante de 67 jours, non salin; *D)* plante de 67 jours, salin; *E)* plante de 72 jours, non salin; *F)* plante de 72 jours, salin.

*Fig. 4.* Aminoacides des feuilles de paprika cultivée en pot dans un sol salinisé avec de l'eau salée (72 jours). Chromatogramme de couche.

*Tableau 1.* Teneur en proline des feuilles de diverses plantes accrue par suite d'une carence d'eau (mg/g matière sèche). (1) Plantes: *a)* paprika, en pot; *b)* paprika, en plein air; *c)* tabac, en plein air; *d)* tabac, feuilles coupées, fanées; *e)* Solanum laciniatum, feuilles coupées, fanées; *f)* blé, en pot; *g)* riz; feuilles de plantes flétrissant. (2) Feuilles de plantes arrosées, fixées immédiatement après l'ablation. (3) Jours à partir de la cessation de l'arrosage.

*Tableau 2.* Effet de la kinetine, de la gibberelline et des antimétabolites sur la teneur en proline des feuilles isolées, flétries, pendant 48 heures (mg/g de matière sèche).

## Изменение содержания аминокислот в растениях под влиянием недостатка воды и засоленности почвы

Г. ПАЛФИ и Й. ЙУХАС

Государственный Университет им. А. Йожеф, кафедра физиологии растений и микробиологии, г. Сегед (Венгрия)

### Резюме

Изучалось влияние недостатка воды на состав свободных аминокислот в листьях перца (*Capsicum annuum* L.), табака (*Nicotiana tabacum* L.), *Solanum laciniatum* Ait, пшеницы (*Triticum vulgare* L.), риса (*Oryza sativa* L.) и фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.).

1. Установили, что под влиянием дефицита воды наряду с увеличением содержания общей аминокислоты, а также глутамина и аспарагина отмечается необычайное увеличение содержания пролина.

2. Повышение содержания пролина при водном дефиците отмечается не только в целых растениях вегетационных и полевых опытов, но и при медленном завядании срезированных с растения листьев. Из этого следует, что одной из причин неблагоприятных явлений, наступающих в изолированных, завядающих листьях является нехватка воды. Синтез пролина в листьях, завядающих на свету и в темноте проходит по разному. В вариантах с освещением, продолжавшимся до полного высыхания, пролин за пять дней образовался в очень высокой концентрации. В варианте без освещения содержание пролина в течение 5-ти дней также очень резко возросло, а затем постепенно снижалось до уровня контроля. На основании этого можно заключить, что большее количество пролина образуется из углеводов, а содержание углеводов в темноте при отсутствии синтеза за два дня полностью истощилось.

3. Аномально высокая концентрация пролина в листьях может возникнуть под влиянием высокого содержания солей в поливных водах или в почве. Таким образом,



повышение содержания пролина указывает на физиологическую засуху. Показали также, что в листьях растений, выращенных на засоленных почвах, количество растворимого общего протеина снижается по сравнению с контролем. В вариантах на засоленных почвах нарушение синтеза белков подтверждается появлением среди свободных аминокислот пипеколиновой кислоты. Эта не образующая белков аминокислота в больших количествах появляется в физиологически ослабленных или зараженных растениях.

4. Высокая концентрация пролина в листьях целых растений, страдающих недостатком воды, под влиянием повторного орошения снижается до нормального уровня, но только на 4—5 день после обеспечения оптимальным количеством воды.

5. Среди использованных активных соединений только 2,4-динитрофенол остановил синтез пролина. Это указывает на то, что при завядании большое количество пролина образуется благодаря  $\alpha$ -кетоглутарата и  $\text{NADPH}_2$ , возникающих при окислении сахаров. Оксидативное фосфорилирование расщепляется при помощи 2,4-динитрофенола. Большое количество пролина, возникающее при нехватке воды, синтезируется заново, что подтверждается результатами гидролиза белка.

6. Гиббереллин и кинетин, применяемые для опрыскивания завядающих листьев, не противостоят аномальному накоплению пролина даже при совместном применении, но в этом случае не проявлялось тормозящее влияние *i*-барбитурной кислоты и 8-азаденина.

*Табл. 1.* Увеличенное содержание пролина в листьях некоторых растений под влиянием дефицита воды (мг/г сухого вещества). (1) Растения: а) Перец в вегетационных сосудах. б) Перец в полевом опыте. в) Табак в полевом опыте. г) Табак, отрезанные завядающие листья. е) Отрезанные завядающие листья *Sol. laciniatum*. ф) Пшеница в вегетационных сосудах. г) Рис, листья с увядающих побегов. (2) Зафиксированные во время срезки листья орошаемых культур. (3) Число дней с начала удаления воды.

*Табл. 2.* Влияние кинетина, гиббереллина и антиметаболитов на содержание пролина в изолированных завядающих листьях за 48 часов (мг/г сухого вещества).

*Рис. 1.* Свободные аминокислоты в листьях растений страдающих от недостатка воды и обеспеченных водой. А) *Solanum laciniatum* с орошением. В) *Solanum laciniatum* страдающая от недостатка воды. С) Перец орошаемый. D) Перец страдающий от недостатка воды. Е) Пшеница орошаемая. F) Пшеница страдающая от недостатка воды.

*Рис. 2.* Свободные аминокислоты в изолированных завядающих листьях *Solanum laciniatum*. А) Листья зафиксированные сразу после срезки (контроль). В), С), D), Е), F) вытяжки из срезанных листьев на 1, 2, 3, 4, и 5 день завядания.

*Рис. 3.* Аминокислоты листьев перца, выращенного в вегетационных сосудах на искусственно засоленной почве. А) 62-х дневные растения на незасоленной почве (контроль). В) 62-х дневные растения на засоленной почве. С) 67-х дневные растения на незасоленной почве. D) 67-х дневные растения на засоленной почве. Е) 72-х дневные растения без засоления. F) 72-х дневные растения с засолением.

*Рис. 4.* Аминокислоты листьев 72-х дневного растения перца, выращенного в вегетационных сосудах с искусственно засоленной почвой. Послойная хроматограмма.