

УДК 633.16:631.528:577.12

## ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ПЛОИДНОСТИ НА БЕЛКОВЫЙ КОМПЛЕКС ЗЕРНА ЯЧМЕНЯ

Е. В. ПЫЛЬНЕВА, П. Н. ПЫЛЬНЕВА, А. П. ЛЕВИЦКИЙ

(Кафедра генетики, селекции и семеноводства полевых культур)

При удвоении числа хромосом у ячменя изменяется химический состав зрелого зерна: увеличивается содержание сырого протеина, золы и уменьшается накопление крахмала.

Полиплоиды отличаются от диплоидов физико-химическими свойствами белка зерна, в частности изменением соотношения отдельных его фракций в общей сумме азотистых веществ.

Уменьшение в белке зерна содержания аминокислот щелочерастворимой фракции компенсируется увеличением количества аминокислот других белковых фракций. Поэтому аминокислотный состав суммарного белка зерна тетраплоидов не изменяется.

Полиплоидия влияет не только на морфологические, но и на физиолого-биохимические показатели растений. В зависимости от уровня плоидности изменяется химический состав зрелого зерна пшеницы [22], ржи [18], ячменя [11, 13].

Исследования ряда авторов показали, что полиплоидные растения отличаются от диплоидов по биохимическим показателям не только зрелых генеративных, но и вегетативных органов во все фазы их развития. Так, изменения ряда ферментов в листьях отмечались у тетраплоидных форм шелковицы [21]. Наблюдалось угнетение фотохимической активности в хлоропластах проростков тетраплоидных форм ячменя и ржи [14].

Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют, что нарушение генного баланса у полиплоидов существенно сказывается на метаболизме азотистых веществ [3—5, 7—9].

Установлено, что в пыльце тетраплоидов сахарной свеклы накапливается избыточное количество низкомолекулярных азотистых соединений на фоне снижения общего уровня накопления азота [8]. Именно с этим авторы связывают пониженную жизнеспособность пыльцы у данных тетраформ.

В настоящее время нет единого мнения о влиянии уровня плоидности на накопление белка в зрелом зерне основных злаковых культур. Так, по данным одних авторов, тетраформы отдельных сортов ячменя по содержанию белка в зерне превосходят исходные диплоидные формы [6, 10, 12, 13], по данным других, — не отличаются от последних [11] и даже уступают им [20]. Аналогичные противоречивые сведения можно найти и по другим культурам. Так, тетраплоиды ржи, полученные из сортов Вятка, Омка, Удинская, Короткостебельная 69 и Харьковская 60, накапливали белка в зерне больше, чем их диплоидные аналоги [18]. В то же время тетраплоиды ржи сорта Петкуская уступали диплоидам по накоплению белкового азота в зерне [4]. Не найдено различий в содержании азота в зерне между ди- и тетраплоидами гречихи [5].

В результате изучения белкового комплекса зерна озимой ржи в процессе онтогенеза установлено, что с удвоением числа хромосом связано снижение общей белковости зерна [3]. При этом если по количеству белка тетраплоиды уступали диплоидам на 1,9 %, то по накоплению небелковых форм азота обе формы не различались.

Белок зерна гетерогенен по составу и представляет собой сложный комплекс индивидуальных белков, различающихся по физическим и химическим свойствам: альбумины (водосолерастворимая фракция), проламины (спирторастворимая), глютелины (щелочерастворимая) [15]. Каждая из указанных фракций имеет специфический аминокислотный состав. Кормовые достоинства зерна зависят от содержания всех фракций, кроме спирторастворимой, несбалансированной по незаменимой аминокислоте — лизину. В составе этой фракции содержится очень мало и другой незаменимой аминокислоты — триптофана [17]. При сравнительном изучении фракционного состава белка зерна тетра- и диплоидной ржи и ячменя у первых отмечено увеличение содержания водосолерастворимых белков и уменьшение — спирто- и щелочерастворимых [4, 10, 20]. В зерне гречихи с увеличением плоидности накопление соле- и щелочерастворимых фракций белка повышается, а водорастворимых фракций, наоборот, снижается [19].

Немногочисленные и весьма противоречивые литературные данные свидетельствуют о целесообразности изучения влияния уровня плоидности на белковый комплекс зерна. Тем более что дальнейшие исследования генетических, физиолого-биохимических особенностей полиплоидов злаков представляют интерес с точки зрения использования их в селекции на качество белка.

### Методика

В опыте изучались тетраплоидные формы ячменя сортов Московский 121, Надя, Мами, Вальтички и их диплоидные аналоги. Тетраплоиды были получены в 1979—1980 гг. на кафедре генетики, селекции и семеноводства полевых культур Тимирязевской академии путем обработки проросших семян 0,05 % раствором колхицина в течение 1—1,5 сут [9]. В последующие годы полученные формы репродуцировали в теплице и в поле. Уровень плоидности постоянно контролировали путем подсчета числа хромосом в корешках проростков.

Для определения химического состава брали зрелое зерно с растений, выращенных в полевых условиях в 1983—1985 гг. Подготовку материала и анализ осуществляли в лаборатории биохимии растений ВСГИ (г. Одесса) по методикам, принятым для оценки селекционного материала [1].

Фракционирование белка проводили по сокращенной схеме Осборна с последующим определением азота в каждой фракции по фенолгипохлоритной реакции с использованием прибора «Контифло» (ВНР). Такая модификация метода оценки качества белка, принятая в лаборатории биохимии ВСГИ, позволяет использовать для анализа небольшие навески селекционно ценного материала.

Экстракцию белковых фракций проводили при постоянной температуре (+23...+25 °С). С этой целью встряхиватель помещали в термостат. Техника извлечения отдельных фракций состояла в следующем. Водосолерастворимые белки извлекали 5 % раствором сернистого калия. Эта фракция, кроме белкового азота, включает в себя и небелковый. Проламины или гордеины ячменя экстрагировали 70 % раствором этанола, глютелины — 0,2 % раствором едкого натра.

Навеску размолотого зерна (1 г) помещали в пластмассовую центрифужную пробирку. К навеске добавляли 5 мл 5 % раствора сернистого калия. Содержимое тща-

тельно перемешивали стеклянной палочкой. Пробирку устанавливали на виброскоп на 10 мин. После центрифугирования в течение 5 мин при 5000 об/мин центрифугат через тонкий ватный фильтр сливали в мерную колбочку на 25 мл. Последнюю, пятую, экстракцию проводили дистиллированной водой (5 мл). Общий объем в мерной колбочке доводили дистиллированной водой до 25 мл. После тщательного перемешивания отбирали пробы по 5 мл в 2 пробирки для минерализации полученной фракции белка. Для этих целей использовали большие пробирки высотой 200 мм и диаметром 20 мм,

Аналогичным образом извлекали спирторастворимую фракцию. Разница состояла лишь в том, что предпоследнюю экстракцию спиртом осуществляли в течение 1 ч, чтобы обеспечить более полный выход фракции. Для сжигания также отбирали по 5 мл экстракта в двух повторениях. После последней спиртовой экстракции в пробирку добавляли 5 мл 0,2 % раствора едкого натра и извлекали щелочерастворимые белки. Из конечного объема отбирали по 5 мл для сжигания белка.

Экстракцию всех белковых фракций осуществляли в течение одного рабочего дня. Параллельно с каждым определением ставили холостой опыт на реактивы и тоже отбирали из 25 мл по 5 мл для сжигания. В отдельных навесках по 50 мг в двух повторениях определяли содержание общего азота. Для минерализации каждой фракции а также исходного материала в пробирку добавляли по 1 мл концентрированной серной кислоты. Пробирки помещали в специальные приспособления на электроплитки. Во избежание потерь проводили упаривание гидролизатов при слабом нагревании в течение 2 ч. Затем содержимое пробирок охлаждали и в каждую добавляли 140 мг катализатора, который приготавливали из 95 г сернистого калия и 5 г селена. После этого пробирки вновь помещали в блок для

Химический состав диплоидных (Д) и тетраплоидных (Т) форм ячменя  
(% к абсолютно сухому веществу) 1983—1985 гг.

Сорт	Сырой протеин (N×6.25)		Крахмал		Зола	
	Д	Т	Д	Т	Д	тТ
Московский 121	12,1	16,5	57,8	46,4	2,94	3,36
Надя	10,9	16,8	56,3	49,8	2,59	3,69
Мами	11,9	17,5	61,2	51,3	2,88	3,77
Вальтички	12,7	15,9	59,1	52,7	2,60	3,23
Среднее	11,9	16,9	58,6	50,1	2,75	3,51
НСР <sub>05</sub>	1,5		4,3		0,38	

сжигания. Через 1 ч минерализация органического вещества в пробирках заканчивалась, о чем судили по прозрачности гидролимата. После полного охлаждения гидролизат в тех же пробирках разводили водой, прибавляя ее из дозатора по 40 мл. Содержимое пробирок тщательно перемешивали и в нем определяли азот по фенолгипохлоритной реакции на приборе «Контифло». Белок

неизвлекаемого остатка находили по разности между суммой отдельной фракции и общим его содержанием. Каждая фракция определялась в 4-кратной аналитической повторности.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли методом дисперсионного анализа в изложении Б. А. Доспехова [2].

Таблица 2

Содержание фракций белка в зерне ячменя различного уровня плоидности.  
1983—1985 гг.

Фракция белка	ский 121	Надя	Мами	Вальтички	Среднее	НСР <sub>05</sub>
% к абсолютно сухому веществу						
Водосолевая	3,33	2,96	3,59	3,57	3,36	0,65
	5,15	5,21	4,97	5,21	5,13	
Спиртовая	2,58	2,78	2,92	3,74	3,00	0,79
	4,48	5,19	5,18	5,69	5,13	
Щелочераствори- мая	4,57	3,68	3,82	4,15	4,05	0,60
	5,51	4,56	5,12	4,59	4,94	
Неэкстрагируемый остаток	1,37	1,28	1,57	1,71	1,48	0,59
	2,51	2,37	2,94	2,02	2,46	
Сумма фракций	11,94	10,71	11,90	13,18	11,90	1,46
	17,66	17,34	18,21	17,52	17,68	
% к сумме фракций						
Водосолевая	28,0	27,7	30,2	27,1	28,2	3,50
	29,1	30,1	27,1	29,8	29,0	
Спиртовая	21,6	25,9	24,1	28,3	25,0	3,90
	25,3	30,0	28,8	32,7	29,3	
Щелочераствори- мая	38,6	34,2	32,5	31,4	34,2	4,7
	31,7	26,3	28,3	26,3	28,2	
Неэкстргируемый остаток	11,8	12,2	13,2	13,2	12,5	3,5
	13,9	13,6	15,8	11,2	13,5	

Примечание В числителе — диплоид, в знаменателе — тетраплоид.

Аминокислотный состав белка  
(г на 100 г белка) у зерна  
диплоидного и тетраплоидного ячменя.  
1983—1984 гг.

Аминокислота	Дип-лоиды	Тетра-лоиды	НСР <sub>05</sub>
Лизин	3,70	3,58	0,11
Гистидин	2,40	2,36	0,09
Аргинин	4,79	4,91	0,31
Аспарагиновая	6,83	6,68	0,27
Треонин	3,75	3,57	0,16
Серии	4,65	4,50	0,10
Глутаминовая	26,45	27,47	0,60
Пролин	11,04	11,23	0,37
Глицин	4,14	3,91	0,11
Тирозин	2,70	2,66	0,20
Аланин	4,38	4,43	0,19
Валин	4,89	4,73	0,14
Лейцин	7,49	7,31	0,14
Изолейцин	3,57	3,83	0,65
Фенилаланин	5,53	5,88	0,08
Триптофан	1,56	1,32	0,06
Метионин	1,92	1,67	0,29

Качественный состав белковой фракции тетраплоидов также отличался от такового у исходных диплоидов (табл. 2).

Более высокое содержание сырого протеина в зерне ячменя с удвоенным набором хромосом сопровождалось увеличением количества составляющих его фракций в расчете на сухое вещество. Другими словами, данные этой таблицы еще раз подтверждают мнение, что для тетраформ характерно более значительное накопление азотсодержащих веществ, чем для исходных сортов.

Сопоставление отношений содержания фракций к общему накоплению белка позволило выявить у полиплоидов изменения его качественного состава (табл. 2). Так, в зерне полиплоидов больше накапливается спирторастворимых белков. Это характерно для всех изучаемых сортов. Кроме того, для большинства тетраплоидов характерна тенденция к увеличению доли водосолевой фракции и азота остатка, который не извлекается применяемыми нами растворителями. Меньше, чем у соответствующих исходных диплоидов, водосолерастворимых белков содержало зерно тетраформ только сорта Мами, азота неэкстрагируемого остатка — только сорта Вальтицки.

Следует отметить, что у полиплоидов всех без исключения изучаемых сортов снизилось количество щелочерастворимых белков.

Принимая во внимание, что отдельные белковые фракции имеют различный аминокислотный состав, следовало бы ожидать при изменении их соотношения у тетраплоидов изменения аминокислотного состава суммарного белка. Однако, как показал анализ данных табл. 3, в которой обобщены двухлетние результаты по 5 сортам, удвоение числа хромосом не привело к изменению соотношения отдельных аминокислот в зрелом зерне тетраплоидов.

Отсутствие различий в аминокислотном составе суммарного белка между изучаемыми формами ячменя обусловлено тем, что уменьшение содержания аминокислот глютелиновой фракции компенсируется увеличением содержания других фракций. На отсутствие различий в аминокислотном составе белка зерна тетраплоидов и диплоидов у других культур также указывается в работе [5].

### Выводы

1. Удвоение числа хромосом у ячменя сопровождается изменением химического состава зрелого зерна. Увеличивается содержание сырого протеина, золы и уменьшается накопление крахмала.

Данные о сравнительной биохимической оценке зерна ячменя, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что тетраплоиды характеризуются повышенным накоплением азотистых веществ. Вместе с тем синтез углеводов у них заметно редуцирован. На это указывает более низкое содержание крахмала в зрелом зерне тетраплоидов.

Нельзя не отметить также, что по количеству минеральных веществ, в зерне тетраформы всех без исключения сортов превосходят исходные аналоги. Подобную особенность тетраплоидов наблюдали и другие исследователи [18, 23]. Таким образом, можно сделать вывод, что полиплоидия приводит к изменению биохимических показателей зрелого зерна.

2. Полиплоидия способствует изменению физико-химических свойств белка в зерне. В частности, меняется соотношение отдельных его фракций в общей сумме азотистых веществ зерна. В зерне тетраплоидов изученных сортов наиболее существенно снижается накопление щелочерастворимых белков и увеличивается спирторастворимых.

3. Уменьшение содержания аминокислот, входящих в состав щелочерастворимой фракции белка, компенсируется увеличением содержания аминокислот других фракций. В результате при удвоении числа хромосом у ячменя аминокислотный состав белка зерна ее изменяется.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимические методы исследования селекционного материала. — Сб. науч. тр. ВСГИ. Одесса, 1979, вып. 15. — 2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Изд. 5-е. — ВО Агропромиздат, 1985. — 3. Жебрак Э. А., Груздев Л. Г., Куваринов В. В. Биохимическая характеристика белков зерна тетраплоидов и анеуплоидов озимой ржи / IV Всес. совещ. по полиплоидии. — Киев: Наукова думка, 1975. — 4. Жебрак Э. А., Колчин Н. М. Состав белковых компонентов дисциклоидной и тетраплоидной ржи. — С.-х. биология, 1968, т. 3, № 3, с. 439—441. — 5. Жебрак Э. А., Колчин Н. М., Никольский Ю. К. Аминокислотный спектр диплоидной и тетраплоидной гречи — Изв. АН БССР. 1966. № 1, с. 133—135. — 6. Запriansов С., Граматикова М., Бургозова И., Вълчанов П. Биологични особености на тетраплоидни форм зимен ечемик. — Растениевд. науки, 1984, т. 21, № 14, с. 5—12. — 7. Кипнис с Е. А., Забенькова К. И. Электрофоретическое изучение пыльцы и семян сахарной свеклы разной плоидности / Методика генетико-селект. и генет. экспериментов. — Минск: Наука и техника, 1973, с. 164—167. — 8. Кипнис Е. А., Семерихина С. Е., Забенькова К. И. Биогическое изучение пыльцы автотетраплоидной сахарной свеклы в связи с фертильностью / IV Всесоюз. совещ. по полиплоидии. — Киев: Наукова думка, 1975, с. 56—57. — 9. Корябин Н. А. Получение и хозяйственно-биологическая характеристика тетраплоидных форм ячменя. — Изв. ТСХА. 1983, вып. 3, с. 58—64. — 10. Кучумова Л. П., Манзюк В. Т., Барсуков П. Н. и др. Электрофоретическая характеристика белков диплоидов и тетраплоидов ячменя. — Физиология и биохимия культ. растений, 1975, т. 7, вып. 1, с. 82—85. — 11. Лукьянова М. В. Характеристика мировой коллекции ячменя по качеству зерна / Зерновые культуры интенсивного типа Нечерноземной зоны РСФСР. — Л.: СЗНИИСХ, 1979, с. 92—97. — 12. Чанзюк В. Т., Барсуков П. Н., Шкуматов В. П. Полиплоидия в селекции ячменя на качество. — Селекция и семеноводство, 1975, № 1, с. 14—15. — 13. Манзюк В. Т., Барсуков П. Н., Петренко В. А. С. Биохимическая характеристика тетраплоидных форм ячменя. — Селекция и семеноводство. Киев: Урожай, 1976, вып. 34, с. 72—76. — 14. Никольский Ю. К., Иванченко В. М. Количественные различия по фотохимической активности изолированных хлоропластов диплоидных и тетраплоидных форм ячменя и ржи У Гетерозис и количественное наследование. — Минск: Наука и техника, 1977, с. 184—187. — 15. Осборн Т. Б. Растительные белки. — М.: Биомедгиз., 1935. — 16. Пыльнева Е. В. Физические свойства и химический состав зерна тетраплоидных и диплоидных форм ячменя. — Изв. ТСХА, 1986, вып. 3, с. 70—76. — 17. Рядчиков В. Г. Улучшение зерновых белков. — М.: Колос, 1978. — 18. Сироткин В. В., Степочкина Н. И. К вопросу о наследовании признаков качества зерна озимой ржи при переходе с диплоидного на тетраплоидный уровень. — С.-х. биология, 1984, № 1, с. 21—23. — 19. Соколов О. А., Семихов В. Ф. Белковый комплекс семян гречихи в зависимости от плоидности и условий питания / Физиология и биохимия сорта. — Тр. III конф. физиологов и биохимиков растений Сибири и Дальнего Востока, ч. I. Иркутск, 1969, с. 80—83. — 20. Соколова С. М., Жебрак Э. А. Некоторые биохимические особенности индуцированных полиплоидов — Цитология и генетика, 1970, т. 4, № 5, с. 408—410. — 21. Талышинский Г. М. Исследование некоторых ферментов в листьях шелковицы различной степени плоидности / IV Всесоюз. совещание по полиплоидии. — Киев: Наукова думка, 1975, с. 120—121. — 22. Худадатов А. И., Касумов Г. К., Гусейнова А. Г. Изучение химического состава зерна диплоидных, тетраплоидных и гексаплоидных пшениц / IV Всесоюз. совещание по полиплоидии. — Киев: Наукова думка, 1975, с. 129—130.

*Статья поступила 20 декабря 1986 г.*

## SUMMARY

The change of biochemical composition in four diploid spring barley varieties and their tetraploid analogues was studied.

Double chromosome number in barley results in variation in protein fractions. Protein quality (the ratio of certain proteinogenic amino acids) does not vary with higher ploidy.