

УДК 633.11:631.811:581.19.04.547.96

СКОРОСТЬ ОБНОВЛЕНИЯ СРЕДНЕРАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ У ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗНЫХ ФОРМ АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ

В. П. КРИЩЕНКО, А. А. ПАНТЕЛЕЕВ

(Кафедра агрономической и биологической химии)

Приводятся данные о содержании фракций среднерастворимых белков в зерне, надземной вегетативной массе и корнях яровой пшеницы и включении в них меченого азота некорневых подкормок при разном уровне корневого питания. Обсуждается степень влияния некорневых подкормок на содержание фракций среднерастворимых белков в разных частях растения.

В процессе роста и развития растений меняется скорость обновления содержащихся в них белков. По мере созревания пшеницы скорость обновления белков уменьшается [1]. Некорневые азотные подкормки влияют на скорость обновления растворимой и нерастворимой частей белкового комплекса зерна, надземной вегетативной массы и корней пшеницы [2]. Изучение разделения растворимых белков на легко-, средне- и труднорастворимые фракции и включения в них азота разных форм азотных удобрений (некорневая подкормка) показало, что скорость их обновления неодинаковая [3]. У менее гетерогенных белков зависимость этого показателя от условий минерального питания растений более четко выражена [4].

Изучение скорости обновления белков в зависимости от факторов внешней среды, на наш взгляд, является актуальной задачей. Можно предположить, что в том случае, если будет разработан механизм регулирования скорости обновления белков, представится возможность эффективно управлять процессом накопления белков в растениях.

Цель данной работы — изучение влияния факторов внешней среды на скорость обновления по возможности менее гетерогенных белковых систем и поиск на этой основе путей регулирования накопления белков в пшенице. Говоря о скорости обновления белков, напомним, что интенсивность включения в них азота удобрений, определенная с помощью стабильного изотопа азота ^{15}N , мы отождествляем со скоростью обновления белков. Этот метод дает хорошие результаты, если его использовать в течение недолгого времени после начала эксперимента. Большая экспозиция сопряжена с большей ошибкой при установлении количества вновь включаемого стабильного изотопа азота в объект исследований — белки растений [4].

Методика

Яровую пшеницу сорта Краснозерная выращивали в сосудах Митчерлиха, заполненных 6 кг дерново-подзолистой среднесуглинистой почвы. Агрохимическая характеристика почвы следующая: $\text{pH}_{\text{СОЛ}}=5,0$, содержание гумуса по Тюрину и общего азота по Кьельдалю — соответственно 2,1 и 0,1%, подвижного фосфора по Кирсанову — 6 мг на 100 г, обменного калия по Масловой — 10 мг на 100 г.

В опыте было два варианта: без удобрения (фон 1) и с удобрением (фон 2). В качестве удобрений применяли: NH_4NO_3 — 2,88 г на сосуд, KH_2PO_4 — 1,36, K_2HPO_4 — 0,02, KNO_3 — 0,51, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,37, $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,013, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,004, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,04, $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,001, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,002, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,016, железо в виде соли лимонной кисло-

ты — 0,021 г на сосуд. Соотношение $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$: K_2HPO_4 подобрано с таким расчетом, чтобы значения $\text{pH}_{\text{СОЛ}}$ и $\text{pH}_{\text{ПОЧВ}}$ были близки. Удобрения вносили в 3 приема: половину нормы — при набивке сосудов, четвертую часть — через 2 недели после высаживания пророщенных семян (в фазу трех листьев), остальные — в начале фазы выход в трубку. Перед пророщиванием семена протравливали формалином и высаживали по 25 пророщенных семян на сосуд. После пророщивания оставляли по 15 растений. В период вегетации растений для предупреждения их заболевания мучнистой росой применяли морестан. Последнюю обработку этим препаратом проводили перед началом колошения. В фазу начало формирования зерна их опрыскивали раствором сульфата аммония, мочевины или азотно-

кислого натрия из расчета 6,7 мг азота на одно растение. Обработку указанными удобрениями проводили на обоих фонах корневого питания. Обогащение удобрений меченым азотом было разным. Методика проведения опыта с мечеными азотными удобрениями общепринятая [5]. Методы анализов, методика проведения опытов, а также данные об урожае зерна приведены в работах [6, 7]. 1-ю и 2-ю фракции среднераст-

воримых белков последовательно экстрагировали 0,05 М фосфатным (рН 7,45) и 0,05 М карбонатным (рН 9,45) буферами после извлечения легко растворимых белков [8]. Содержание фракций белков выражено в процентах к общему количеству белков пробы. Фиксацию проб растительной массы проводили жидким азотом сразу после отбора.

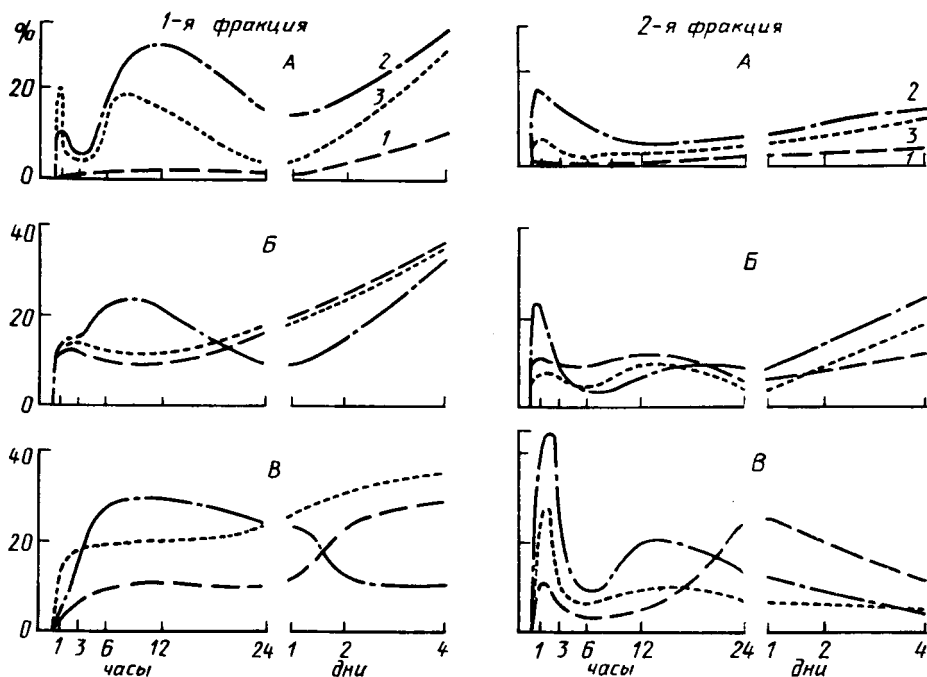
Результаты

Прежде чем рассматривать данные о содержании фракций среднерастворимых белков (табл. 1), укажем, что общее количество белковых веществ в растениях, а также их растворимой части зависит от некорневых подкормок азотными удобрениями. Например, мочевина усиливает

Таблица 1

Содержание фракций среднерастворимых белков (% к общему их количеству) в разных частях пшеницы на фоне 1 (числитель) и фоне 2 (знаменатель)

Фаза вегетации (дни после подкормки)	1-я фракция				2-я фракция			
	конт-роль	NH ₂	NO ₂	NH ₄	конт-роль	NH ₂	NO ₂	NH ₄
Зерно								
Начало налива:								
(1)	12,1 10,9	13,2 10,9	7,0 3,9	10,0 7,2	11,6 3,2	14,6 14,9	11,3 3,8	10,8 4,2
(4)	11,8 8,6	12,9 8,8	7,6 4,2	10,0 6,1	12,2 4,6	17,0 13,2	11,9 4,4	11,9 4,3
Молочная спелость (15)	10,1 3,0	9,8 7,7	10,2 14,0	6,5 1,9	10,1 5,1	14,8 11,5	9,3 5,8	10,7 3,8
Восковая (31) спелость	7,0 2,0	8,9 7,0	10,4 17,9	9,9 5,6	9,3 5,0	13,4 7,7	8,7 8,1	12,9 10,1
Полная (41) спелость	3,1 2,2	9,7 7,5	5,8 18,3	13,7 7,3	8,8 5,9	9,7 7,5	8,0 11,9	3,3 11,8
Надземная вегетативная масса								
Начало налива:								
(1)	11,1 4,4	9,0 6,7	11,4 6,1	9,3 6,9	10,5 17,6	12,4 11,9	13,2 12,3	23,7 8,2
(4)	10,0 5,3	9,3 6,0	11,3 7,8	8,1 8,2	12,7 16,0	12,4 10,3	11,2 10,3	22,8 9,7
Молочная (15) спелость	14,3 5,9	13,7 5,7	19,1 8,1	6,3 9,3	11,0 18,0	15,4 11,3	8,8 6,8	19,9 10,4
Восковая (31) спелость	5,7 6,0	6,0 3,1	9,6 4,8	7,8 3,7	5,7 18,1	10,7 10,8	5,4 2,2	6,1 15,6
Корни								
Начало налива:								
(1)	11,1 4,9	9,6 8,3	7,9 7,5	8,2 5,1	11,5 7,1	9,6 6,5	7,9 6,0	5,0 4,5
(4)	15,5 4,3	8,2 7,1	7,7 9,7	8,5 5,8	14,0 6,9	8,5 6,7	7,6 6,9	7,3 5,8
Молочная (15) спелость	5,7 4,3	3,6 7,8	7,0 6,9	6,9 7,9	10,1 5,3	5,6 6,8	7,3 10,1	7,2 7,3
Восковая (31) спелость	6,6 3,1	13,2 6,0	8,6 6,5	8,5 9,4	6,6 5,9	5,7 6,3	9,1 6,3	7,1 8,3



Динамика включения азота некорневых подкормок (опыт с ^{15}N) в 1-ю и 2-ю фракции среднерастворимых белков зерна (А), надземной вегетативной массы (Б) и корней (В) яровой пшеницы при низком уровне корневого питания.

1 — некорневая подкормка NH_3 ; 2 — NO_3 ; 3 — NH_4 .

отток азота из репродуктивных органов в зерновку [2]. Некорневые подкормки теми или иными формами азотных удобрений неодинаково влияли на содержание фракций среднерастворимых белков (табл. 1). Общим является то, что к началу восковой спелости зерна некорневые подкормки независимо от формы азотного удобрения повышали долю 1-й фракции среднерастворимых белков в белковом комплексе зерна при обоих режимах корневого питания растений. В течение всего периода развития растений в корнях возрастало количество 1-й фракции среднерастворимых белков на фоне 2. Кроме того, на этом фоне значительно уменьшалось накопление 2-й фракции среднерастворимых белков в надземных вегетативных органах при любой форме азотных удобрений при некорневой подкормке пшеницы. Специфичной является реакция растений на некорневую подкормку мочевиной. Это удобрение устойчиво повышало долю 1-й и 2-й фракций среднерастворимых белков в белковом комплексе зерна при обоих режимах корневого питания растений. Следует также отметить увеличение содержания 1-й фракции среднерастворимых белков в надземной вегетативной массе при использовании нитратной формы удобрений и 2-й фракции при использовании аммиачного азотного удобрения.

Таким образом, некорневые подкормки яровой пшеницы разными формами азотных удобрений влияют на содержание в белковом комплексе зерна, надземной вегетативной массы и корней фракций среднерастворимых белков. В количественном отношении эти изменения в разных частях растений, выращиваемых на фоне 1 и 2, были практически одинаковыми.

В работе [3] отмечалось, что среди трех групп белков (легко-, средне- и труднорастворимые) среднерастворимые обладают наименьшей скоростью обновления, но у них хорошо выражена волнообразность данного процесса, особенно в зерне и надземной вегетативной массе растений. Однако не все компоненты, входящие в эту группу, одинаковы по анализируемому параметру. 1-я фракция среднерастворимых белков

Т а б л и ц а 2

Включение азота некорневых подкормок
(% к N белка) во фракции
среднерастворимых белков
в начальный период налива зерна пшеницы
при высоком уровне питания (опыт с ^{16}N)

Время отбора проб после подкормки	1-5 фракция			2-я фракция		
	NH_2	NO_3	NH_4	NH_2	NO_3	NH_4
Зерно						
1 ч	Сл.	29,9	13,9	—	29,9	5,7
3 ч	0,6	17,0	2,3	Сл.	16,0	1,9
6 ч	2,0	27,4	6,0	»	8,0	2,9
12 ч	3,9	26,7	13,1	1,8	2,3	7,3
1 сут	2,3	8,5	5,2	2,0	10,5	15,3
2 сут	3,7	14,0	10,7	2,8	14,3	19,2
4 сут	6,8	24,8	23,0	3,8	21,0	26,0
Надземная вегетативная масса						
1 ч	10,3	13,2	12,0	4,4	8,9	2,7
3 ч	10,4	18,0	8,7	3,1	4,3	2,0
6 ч	5,0	26,7	4,9	5,8	10,3	3,3
12 ч	8,6	24,0	6,5	8,7	12,0	5,7
1 сут	29,3	14,5	14,9	3,3	6,6	5,0
2 сут	28,2	14,2	14,2	5,6	9,3	9,8
4 сут	18,4	14,3	13,2	8,5	14,5	20,4
Корни						
3 ч	9,2	3,0	5,8	27,3	31,3	29,4
6 ч	11,0	5,3	6,1	25,9	33,3	24,7
12 ч	12,5	34,9	6,6	25,7	33,4	21,3
1 сут	19,9	28,4	9,9	18,3	27,0	14,7
2 сут	4,5	16,7	13,8	17,4	24,7	14,4
4 сут	10,3	12,2	21,3	16,9	21,8	14,0

волны судить трудно. Постепенное увеличение азота в эти белки не достигло своего максимума в течение контролируемого периода вегетации растений.

Разделение среднерастворимых белков надземной вегетативной массы на две фракции также позволило получить результаты, отличающиеся от таковых при изучении всей группы белков. Обогащение 1-й фракции среднерастворимых белков меченым азотом удобрения в нитратной и амидной его формах было наиболее интенсивным в первый час после их применения, затем наступил период относительно стабильного состояния, который продолжался 14—15 ч. В это время содержание меченого азота в данной фракции белков практически не изменилось, в последующий период оно постепенно увеличивалось. При использовании азотнокислого натрия наблюдалась одна четко обозначившаяся волна изменения интенсивности обновления 1-й фракции среднерастворимых белков, ее продолжительность — 24 ч. Основное отличие 2-й фракции белков от 1-й заключалось в том, что к концу первых суток после начала эксперимента все-таки наметились конец одной и начало другой волны изменения интенсивности включения меченого азота в эти белки. В варианте с нитратным удобрением изменение интенсивности скорости обновления белков имело более четкий волнообразный характер.

Влияние удобрений на включение меченого азота в 1-ю фракцию среднерастворимых белков корней по существу было таким же, как и в аналогичную фракцию белков надземной вегетативной массы пшеницы. Лишь продолжительность первой волны изменения интенсивности обновления этих белков в варианте с азотнокислым натрием в 2 с лишним раза выше, чем в предыдущем случае. Что касается 2-й фракции белков, то прежде всего следует отметить две волны изменения интен-

зерна по количеству волн интенсивности включения в нее меченого азота, характеру реакции на нитратную, аммиачную и амидную формы азотных удобрений в основном такая же, как и группа этих белков в целом (рисунки). Продолжительность первой и второй волн изменения интенсивности обновления белков составляет соответственно 3 и 21 ч. Различия заключаются в том, что амплитуда этих волн, особенно второй, выше. Интенсивность спада волны в 2—3 раза больше, чем интенсивность ее нарастания. Более рельефный характер динамических изменений интенсивности обновления 1-й фракции белков по сравнению с группой среднерастворимых белков в целом обусловлен отделением от них 2-й фракции белков. Если говорить о первой волне, то максимальное включение в нее меченого азота отмечено по истечении 1 ч после применения нитратного или аммиачного азотного удобрения. Спад волны был продолжительнее, чем ее нарастание, особенно в варианте с нитратным удобрением (15 ч). О наличии и величине второй

сивности включения в нее меченого азота при использовании каждой из трех форм азотных удобрений. Продолжительность первой волны, которая была одинаковой во всех трех вариантах опыта (6—7 ч) 2 ч она нарастала и 4—5 ч спадала. Но интенсивность нарастания и ее амплитуда во всех вариантах опыта были разными. Вторая волна отличается от первой временем достижения максимального значения. К концу периода наблюдений (4-е сутки) минимального значения эти волны, по всей видимости, еще не достигли.

Более благоприятный уровень корневого питания растений способствует большому накоплению белков в зерне, надземной вегетативной массе и корнях. Белковый комплекс претерпевает определенные изменения, в нем часто повышается доля легкорастворимых компонентов, но характер изменения скорости обновления белков меняется мало. Иной становится лишь доля меченого азота в органах растений. При общем более высоком уровне накопления азота в растениях относительное количество азота удобрений при некорневых подкормках снижается. Результаты изучения уровня включения меченого азота во фракции среднерастворимых белков частично отличаются от таковых в работах [2, 3]. Суть различий состоит в том, что уровень включения меченого азота (его доля) в 1-ю фракцию среднерастворимых белков всех трех частей растений при выращивании на фоне 2 сопоставим с уровнем накопления метки на фоне 1 (табл. 2). Это в какой-то мере объясняется уменьшением доли 1-й фракции среднерастворимых белков в белковом комплексе пшеницы при более высоком уровне корневого питания. Абсолютные изменения их количества незначительные. То же можно сказать и о 2-й фракции среднерастворимых белков зерна, в меньшей мере это относится к данной фракции надземной вегетативной массы. Уровень включения меченого азота некорневых подкормок во 2-ю фракцию среднерастворимых белков корней зависел от уровня корневого питания растений. При более высоком уровне питания доля 2-й фракции среднерастворимых белков в белковом комплексе корней в начальный период налива зерна была меньше, чем в вариантах без минеральных удобрений. Но включение в них меченого азота азотных удобрений при некорневой подкормке возросло, что явилось специфической реакцией корней на некорневые подкормки при высоком уровне корневого питания. Двухволновое изменение скорости обновления этих белков, которое наблюдалось у растений на фоне 1, на фоне 2 не отмечалось. Вслед за резким нарастанием включения меченого азота в них в течение первых трех часов после подкормки растений наступил период постепенного уменьшения количества метки, который длился весь период наблюдений.

Заключение

Содержание фракций среднерастворимых белков в зерне, надземной вегетативной массе и корнях пшеницы зависит от некорневых подкормок растений азотными удобрениями. Эти фракции белков различаются между собой по скорости обновления. Во всех случаях нарастание волн изменения интенсивности обновления белков (достижение верхнего значения амплитуды) происходит в течение более короткого промежутка времени, чем ее спад, т. е. эти волны асимметричны. Динамика скорости обновления среднерастворимых фракций белков зерна пшеницы при использовании в качестве некорневой подкормки амидной формы азотного удобрения существенно отличается от таковой в случае использования аммиачных и нитратных азотных удобрений. Интенсивность включения во 2-ю фракцию среднерастворимых белков меченого азота азотных удобрений при некорневой подкормке зависела от уровня корневого питания растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крищенко В. П. Формирование качества урожая зерновых культур при различных условиях азотного питания. — В кн.: Влияние применения химических средств на

качество урожая сельскохозяйственных культур. Тр. ЦИНАО, 1976, вып. 4, ч. 1, с. 28—39. — 2. Крищенко В. П., Пантелеев А. А. Содержание растворимых и нерастворимых белков у яровой пшеницы и использование растениями азота некорневых подкормок при разных уровнях питания. — Изв. ТСХА, 1986, вып. 6, с. 60—65, — 3. Крищенко В. П., Пантелеев А. А. Содержание легко-, средне- и труднорастворимых белков у яровой пшеницы и использование растениями азота некорневых подкормок. — Изв. ТСХА, 1987, вып. 1, с. 66—72. — 4. Крищенко В. П., Пантелеев А. А. Влияние разных форм азотных удобрений на содержание фракций легкорастворимых белков у яровой пшеницы. — Изв. ТСХА, 1988, вып. 1, с. 52—59. — 5. Методы

применения изотопа азота ^{15}N в агрохимии / Под ред. Д. А. Коренькова. М.: Колос, 1977. — 6. Крищенко В. П., Маркелова В. Н. Изменения компонентного состава азотистых веществ у яровой пшеницы при некорневых азотных подкормках. — Изв. ТСХА, 1985, вып. 3, с. 86—91, — 7. Крищенко В. П. Изменение содержания азотистых веществ и состава белкового комплекса яровой пшеницы, выращиваемой при разном питании. — Физиол. и биохим. культурных растений, 1984, т. 16, № 4, с. 360—368. — 8. Крищенко В. П. Методика определения аминокислотного состава растительных образцов и разделения белков на фракции буферными растворами. — Изв. АН СССР, сер. биол., 1978, № 3, с. 405—407.

Статья поступила 8 декабря 1987 г.

SUMMARY

In the experiment with the use of ^{15}N , the effect of different forms of nitrogenous fertilizers applied as top dressing on composition and renewal rate of mid-soluble protein fractions in grain, above-ground vegetative mass and roots of spring wheat was studied. It is shown that mid-soluble protein fractions differ in renewal rate. Dynamics of renewal rate in mid-soluble fractions of wheat grain proteins under the use of amid form of nitrogenous fertilizer as top dressing is essentially different from that under application of ammonia and nitrate nitrogenous fertilizers. The extent of the effect of top dressings on composition of mid-soluble protein fractions in different parts of plants is shown.