

УДК 633.11:631.811:581.19.04:547.96

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

В. П. КРИЩЕНКО, Т. Ф. УШАКОВА

(Кафедра агрономической и биологической химии)

Приводятся данные о содержании фракций труднорастворимых белков в зерне, надземной вегетативной массе и корнях яровой пшеницы и включении в них меченого азота некорневых подкормок при разном уровне корневого питания. Показано, что азотные удобрения не влияют на направленность процессов обмена фракций труднорастворимых белков — количество волн изменения интенсивности их обновления остается прежним, но уровень этих волн значительно варьирует.

Качество зерна пшеницы во многом зависит от состава азотистых веществ вегетативной массы растений, особенно в начале перераспределения соединений азота между вегетативной и репродуктивной частями. Придавая большое значение исследованию обмена азотистых

веществ на уровне всего растения, мы провели серию опытов, в которых изучали влияние некорневых подкормок яровой пшеницы разными формами азотных удобрений на компонентный состав белков зерна, надземной вегетативной массы и корней [1, 2]. Исследовали растворимую и нерастворимую части белкового комплекса, скорость их обновления и использование ими азота некорневых подкормок [3]. В дальнейшем растворимые белки были разделены на легко-, средне- и труднорастворимые группы и проведены их исследования [4]. Детально проанализировано влияние некорневых подкормок на содержание фракций легкорастворимых [5] и среднерастворимых [6] белков. В настоящей работе, которая является заключительной во всей серии опытов, рассматривается действие азотных удобрений на фракционный состав и скорость обновления труднорастворимых белков.

Методика

Яровую пшеницу сорта Краснозерная выращивали в сосудах Митчерлиха, заполненных 6 кг дерново-подзолистой среднесуглинистой почвы. Азотный обмен изучали при двух уровнях корневого питания: без минеральных удобрений (фон 1) и при повышенной дозе макро- и микроэлементов (фон 2). Доза азота мочевины, сульфата аммония и азотнокислого натрия, использовавшихся для некорневых подкормок, составила 6,7 мг на растение (100 г на сосуд). Обогащение удобрений меченым азотом было разным. Методика постановки опыта с мечеными азотными удобрениями общепринятая [7]. Методы анализов и проведения опытов, а также данные об урожае зерна представлены в [4, 5, 8]. Труднорастворимые белки экстрагировали 0,1 М

карбонатным (рН 10,7) буфером с добавкой KCl (0,1 М) и 0,16 М боратным (рН 12,3) буфером с добавками KCl (0,17 М) и Na₂SO₃ (0,02 М). Фракции труднорастворимых белков извлекали после отделения легко- и среднерастворимых групп белков [8]. Содержание фракций белков выражено в процентах к общему количеству белков пробы. Растительный материал после каждой экспозиции фиксировали жидким азотом.

Скорость обновления белков определяли путем анализа данных о количестве азота некорневых подкормок, включенного в белки в течение 4 сут после начала эксперимента. В опыте использовали удобрения, меченные стабильным изотопом азота (¹⁵N).

Результаты

Разделение белков на группы и фракции с помощью буферных растворов относится к щадящему режиму их отделения. При соблюдении необходимого температурного режима белки в значительной мере сохраняют свою функциональную активность. Постепенное увеличение рН и ионной силы экстрагентов дает возможность последовательно извлекать фракции легко-, средне- и труднорастворимых белков, переходя от растворимой их части к труднорастворимым компонентам. Определенная часть белковых веществ не извлекается применяемыми буферами, она нами отнесена к нерастворимой части белкового комплекса [3]. В зерне яровой пшеницы их количество к началу налива зерна, в периоды молочной, восковой и полной спелости в среднем составило соответственно 19,0; 20,7; 22,0 и 21,7 % к общему содержанию белков, в надземной вегетативной массе к началу налива зерна, в фазы молочной и восковой спелости — соответственно 14,5; 16,8 и 24,8 %, в корнях — 46,7; 49,3 и 53,0 %. Таким образом, наибольшее количество нерастворимых белков находится в белковом комплексе корней, их содержание во всех частях растений по мере роста и развития пшеницы возрастает.

Труднорастворимые белки, как полагают многие исследователи, близки по своим свойствам к нерастворимым белкам. Их количество в разных частях пшеницы небольшое (табл. 1). Доля 1-й и 2-й фракций в белковом комплексе зерна составила соответственно 2,2 и 1,3 %, в надземной вегетативной массе — 5,7 и 4,0, в корнях — 3,8 и 2,7 %. При такой небольшой доле фракций труднорастворимых белков в разных частях растений нельзя с высокой точностью судить о динамике их содержания в зависимости от некорневых подкормок. Вместе с тем точность опытов при использовании стабильного изотопа азота дает

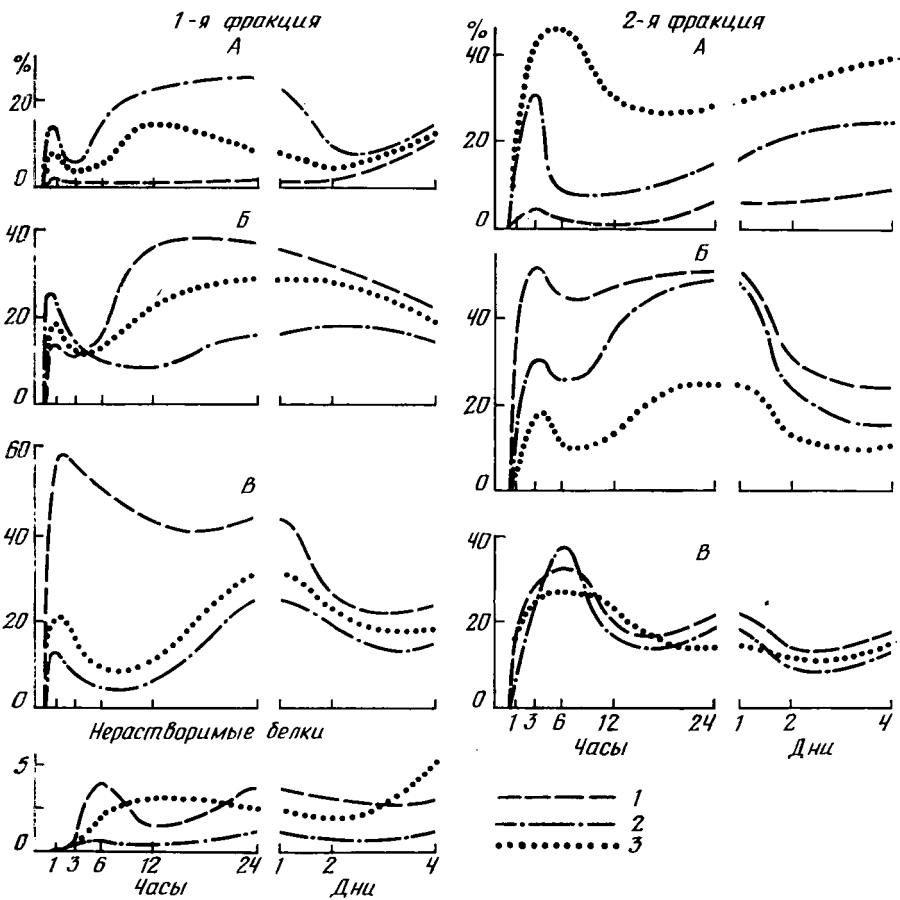
Содержание фракций труднорастворимых белков (% к общему их количеству) в разных частях пшеницы на фоне 1 (числитель) и фоне 2 (знаменатель)

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)	1,5 3,3	4,4 4,0	3,5 2,6	4,4 3,3	2,5 0,9	4,4 5,2	3,3 1,4	2,1 1,5
(4)	1,2 3,2	2,7 4,9	4,1 2,8	4,1 3,8	2,4 0,8	4,1 4,4	3,1 1,3	1,8 0,5
Молочная спелость (15)	0,4 2,9	5,0 6,0	4,3 3,0	2,0 3,0	2,1 0,7	3,4 3,4	3,8 1,4	0,8 0,8
Восковая спелость (31)	0,2 2,8	6,1 5,6	4,0 5,0	1,6 4,9	1,5 0,8	3,3 3,2	2,8 1,0	2,1 0,9
Полная спелость (41)	0,2 3,6	7,1 5,5	3,1 4,2	1,2 8,2	1,5 0,9	3,7 3,1	0,6 0,6	1,9 1,4
Надземная вегетативная масса								
Начало налива:								
(1)	5,6 7,5	4,8 6,1	7,1 5,6	4,9 10,1	1,6 1,5	5,9 5,0	5,7 3,0	4,0 5,5
(4)	3,7 7,1	7,7 4,1	9,0 6,5	5,4 7,3	4,7 1,2	7,7 5,2	4,6 3,7	9,5 3,7
Молочная спелость (15)	4,8 3,0	4,2 2,6	9,5 7,2	7,6 4,4	2,6 1,7	11,2 2,0	2,0 5,7	10,6 2,1
Восковая спелость (31)	5,7 0,9	7,7 4,3	8,8 6,5	6,1 2,6	1,6 1,9	3,0 1,5	8,2 2,2	3,1 1,4
Корни								
Начало налива:								
(1)	2,3 1,7	4,3 1,9	7,0 3,4	4,7 4,1	2,3 1,7	2,4 3,1	3,2 1,0	3,5 3,0
(4)	2,8 2,5	2,9 4,3	7,3 3,2	4,8 6,9	2,2 1,9	1,7 1,7	2,5 2,2	3,2 2,1
Молочная спелость (15)	4,1 4,0	3,4 3,2	9,4 3,1	2,9 7,3	4,4 2,2	7,7 1,6	0,9 3,6	7,7 2,1
Восковая спелость (31)	1,3 6,1	1,6 1,6	3,7 3,3	2,0 3,1	0,7 2,6	1,6 0,9	0,9 4,2	3,7 1,7

возможность изучать включение его даже в небольшие фракции белков.

На основании результатов изучения скорости обновления фракций труднорастворимых белков можно прийти к следующим выводам: 1) интенсивность обновления фракций труднорастворимых белков выше, чем легко-, средне- и нерастворимых белков; 2) фракции труднорастворимых белков различаются по скорости обновления; 3) некорневые подкормки растений азотными удобрениями действуют на скорость обновления белков, но не влияют на количество волн изменения интенсивности ассимиляции азота удобрений.

Профиль кривой изменения интенсивности обновления 1-й фракции труднорастворимых белков (рисунок) в основном такой же, как и группы этих белков в целом [4]. Несколько различается лишь продолжительность как первой, так и второй волн процесса, что обусловлено отделением от этой группы 2-й фракции труднорастворимых белков. Белки 2-й фракции отличаются по своим параметрам от белков 1-й фракции. Различия состоят не только в продолжительности



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

1 — некорневая подкормка NH_2 ; 2 — яNO_3 ; 3 — NH_4 .

указанных волн, но и в их амплитудах, т. е. в интенсивности обновления белков. Продолжительность первой и второй волн у всей группы труднорастворимых белков в зерне составляет соответственно 2 и 45 ч, надземной вегетативной массе — 7 и 65, корнях — 17 и 55 ч; продолжительность первой и второй волн у 1-й фракции этих белков зерна — 3 и 55 ч, надземной вегетативной массы — 4 и $>90^1$, корней — 8 и 75 ч. Однако продолжительность первой волны в надземной вегетативной массе при внесении азотнокислого натрия намного больше, чем в вариантах NH_2 и NH_4 , — 4 ч, что обусловлено более постепенным ее спадом. Максимум первой волны во всех трех вариантах и всех трех частях растения отмечается практически в одно и то же время — по истечении ~ 1 ч после обработки растений азотным удобрением. Но периоды спада ее разные, что и предопределило различную общую продолжительность волн изменения интенсивности обновления белков. Продолжительность первой волны изменения интенсивности обновления 1-й фракции труднорастворимых белков в надземной вегетативной массе больше, чем в зерне, а в корнях больше, чем в надземной вегетативной массе. Это увеличение продолжительности волны, если рассматривать ее вниз по вертикали по частям растения,

¹ Здесь и далее в некоторых случаях ставится знак $>$. Это означает, что в промежутке времени, в котором проводился опыт, вторая волна изменения интенсивности обновления белков не достигла экстремального значения, а полученные данные не позволяют их экстраполировать.

в 2 раза меньше, чем увеличение, характерное для всей группы труднорастворимых белков, что можно объяснить отделением 2-й фракции труднорастворимых белков, о которых будет идти речь ниже. Продолжительность второй волны изменения интенсивности обновления 1-й фракции труднорастворимых белков больше, чем у группы этих белков в целом, в зерне она составляет соответственно 55 и 45 ч, в надземной вегетативной массе >90 и 65, в корнях — 75 и 55 ч. Причина различий та же. Необходимо отметить, что продолжительность второй волны в 10—20 раз больше, чем первой.

По анализируемому показателю 2-я фракция труднорастворимых белков несколько отличается от 1-й (рисунок). Продолжительность первой и второй волн изменения скорости обновления этих белков в зерне была соответственно 7 и >100 ч (последняя цифра предположительно), в надземной вегетативной массе — 9 и 60, в корнях — 15 и 35 ч. Следовательно, продолжительность первой волны 2-й фракции труднорастворимых белков примерно в 2 раза больше, чем 1-й фракции. Если рассматривать изменение данного показателя в отдельных частях растения (зерно → надземная вегетативная масса → исорни), то можно заметить, что продолжительность первой волны изменения скорости обновления 2-й фракции труднорастворимых белков возрастает примерно в 2 раза, а второй волны — снижается в несколько раз. Лишь при использовании в качестве азотного удобрения сульфата аммония продолжительность первой волны изменения скорости обновления 2-й фракции труднорастворимых белков была больше, чем в других вариантах.

По интенсивности включения азота в 1-ю фракцию труднорастворимых белков надземной вегетативной массы и корней в большем промежутке контролируемого времени азотные удобрения можно расположить в следующей последовательности: $\text{NH}_2 > \text{NH}_4 > \text{NO}_3$. Накопление азота мочевины в указанной фракции белков надземной вегетативной массы и корней при некорневой подкормке было выше, а в зерне — ниже, чем в других вариантах опыта. Противоположная картина наблюдалась при использовании нитратной формы азотного удобрения. В этом варианте по сравнению с NH_2 и NH_4 изотоп азота менее интенсивно включался в 1-ю фракцию труднорастворимых белков надземной вегетативной массы и корней и более интенсивно в данные белки зерна.

Азотные удобрения по-разному влияли на скорость обновления 2-й фракции труднорастворимых белков. Различия по этому показателю были наибольшие в зерне и надземной вегетативной массе. По интенсивности включения азота во 2-ю фракцию труднорастворимых белков надземной вегетативной массы и зерна азотные удобрения можно расположить в такой последовательности: $\text{NH}_2 > \text{NO}_3 > \text{NH}_4$ и $\text{NH}_4 > \text{NO}_3 > \text{NH}_2$. Разные формы азотных удобрений при их применении в качестве некорневой подкормки не влияют на направленность процессов обмена фракций труднорастворимых белков — количество волн изменения интенсивности их обновления остается тем же, но продолжительность этих волн варьирует и значительно изменяется уровень этих процессов.

Скорость обновления труднорастворимых белков яровой пшеницы выше, чем легко- и среднерастворимых [4], и намного выше, чем нерастворимых белков зерна, надземной вегетативной массы [3] и особенно корней (рисунок). В нерастворимых белках корней доля азота, поступившего за счет некорневых подкормок, в 10 и более раз меньше, чем в труднорастворимых белках, на фоне 1, на фоне 2 эти различия еще больше. Особый интерес представляет тот факт, что доля азота некорневых подкормок становится очень значительной в 1-й фракции труднорастворимых белков уже через 1 ч, а во 2-й фракции — через 2—3 ч после обработки растений. Это в одинаковой мере относится к зерну, надземной вегетативной массе и корням растений. Количество азота некорневых подкормок, который включается в труд-

**Включение азота некорневых подкормок
(% к N белка) во фракции
труднорастворимых белков
в начальный период налива зерна пшеницы
при высоком уровне корневого питания
(опыт с ^{15}N)**

Время отбо- ра проб после под- кормки	1-я фракция			2-я фракция		
	NH_2	NO_2	NH_4	NH_2	NO_2	NH_4
Зерно						
1 ч	3,2	18,1	16,2	0,5	4,3	5,4
3 ч	2,0	8,4	5,5	0,4	6,5	5,7
6 ч	1,2	25,2	8,2	1,0	8,8	6,6
12 ч	1,0	33,3	18,9	1,3	11,4	10,7
1 сут	5,5	22,5	9,7	9,5	18,1	24,3
2 сут	3,2	10,1	5,8	14,8	27,3	37,8
4 сут	5,4	15,4	3,0	16,6	34,9	42,8
Надземная вегетативная масса						
1 ч	4,3	10,0	5,3	23,1	16,4	5,2
3 ч	0,7	4,3	2,6	27,0	24,3	8,4
6 ч	4,4	0,4	6,0	14,5	2,4	1,4
12 ч	18,6	8,1	10,3	14,3	13,5	8,9
1 сут	20,1	7,2	16,0	15,6	13,9	9,6
2 сут	12,3	9,1	24,2	19,0	17,4	11,3
4 сут	11,2	30,8	32,8	32,0	27,6	20,8
Корни						
3 ч	34,3	17,5	21,2	22,5	15,0	19,4
6 ч	56,0	13,6	15,9	28,3	18,1	23,6
12 ч	60,3	8,0	14,0	4,2	11,8	14,0
1 сут	68,0	5,6	22,0	20,0	15,7	13,8
2 сут	61,3	14,2	28,5	17,9	7,5	12,1
4 сут	54,2	8,5	9,4	26,1	15,1	24,4

норастворимые белки, зависит от формы азотного удобрения. Проведенные исследования делают обоснованным предположение о неординарной роли фракций труднорастворимых белков в ассимиляции азота некорневых подкормок.

Характер изменения изучаемых параметров включения азота некорневых подкормок во фракции труднорастворимых белков пшеницы на фоне 2 в основном был таким же, как и на фоне 1 (табл. 2). Следует, однако, отметить, что при обработке растений раствором мочевины уровень включения азота в 1-ю фракцию труднорастворимых белков на фоне 2 оказался больше, чем на фоне 1. По истечении суток после начала эксперимента доля азота мочевины в белках достигла 68 %. Это очень высокая скорость их обновления, которая ни разу не была зафиксирована во всей серии опытов. Вторая волна изменения интенсивности обновления этих белков имела более высокую амплитуду, чем первая, поэтому первая волна без перепада уровня сразу же перешла во вторую, другими словами, обе волны слились.

Отмеченные особенности свидетельствуют о специфической роли труднорастворимых белков в ассимиляции азота некорневых подкормок. Имеются различия и в скорости обновления 2-й фракции труднорастворимых белков в зерне. При выращивании пшеницы на высоком агрофоне и проведении некорневых подкормок разными формами азотных удобрений в первые часы после начала эксперимента первая волна изменения интенсивности включения в эти белки азота не обнаружена. Во всех трех вариантах доля азота некорневых подкормок в труднорастворимых белках вплоть до конца наблюдения постепенно увеличивалась.

Заключение

Интенсивность обмена фракций труднорастворимых белков в разных частях яровой пшеницы выше, чем легко-, средне- и нерастворимых белков. Между фракциями труднорастворимых белков имеются различия в скорости их обновления. Продолжительность первой и второй волн изменения интенсивности обновления 1-й фракции труднорастворимых белков в зерне составляет соответственно 3 и 55 ч, надземной вегетативной массе — 4 (не во всех вариантах опыта) и >90, в корнях — 8 и 75 ч. Продолжительность первой и второй волн у 2-й фракции этих белков иная: в зерне — соответственно 7 (не во всех вариантах) и >100 ч, надземной вегетативной массе — 9 и 60, корнях — 15 и 35 ч. Разные формы азотных удобрений при их применении в качестве некорневой подкормки не влияют на направленность процессов обмена фракций труднорастворимых белков — количество волн изменения интенсивности их обновления остается прежним, но

продолжительность волн варьирует и значительно изменяется уровень этих процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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. — 2. Крищенко В. П., Маркелова В. Н. Изменение компонентного состава азотистых веществ у яровой пшеницы при некорневых азотных подкормках. — Изв. ТСХА, 1985, вып. 3, с. 86—91. — 3. 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. — 4. Крищенко В. П., Ушакова Т. Ф. Содержание легко-, средне- и труднорастворимых белков у яровой пшеницы и использование растениями азота некорневых подкормок. — Изв. ТСХА, 1987, вып. 1, с. 66—72. — 5. Крищенко В. П., Пантелеев А. А. Изменения скорости обновления труднорастворимых белков у яровой пшеницы при разных условиях питания. — Изв. ТСХА, 1987, вып. 1, с. 60—68. — 6. Крищенко В. П., Пантелеев А. А. Изменение скорости обновления среднерастворимых белков у яровой пшеницы при разных условиях питания. — Изв. ТСХА, 1987, вып. 2, с. 63—71. — 7. Методы применения изотопа азота ^{15}N в агрохимии / Под ред. Д. А. Коренькова. — М.: Колос, 1977. — 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—417.

Статья поступила 12 апреля 1988 г.

SUMMARY

Data on the content of hard-soluble protein fractions in grain, above-ground vegetative mass and roots of spring wheat and on including labelled nitrogen of top dressing into them at different rate of root nutrition are presented. It is shown that nitrogenous fertilizers do not affect the trend of exchange processes in hard-soluble protein fractions—the number of waves of changes in the intensiveness of their renovation remains the same, but the rate of these waves varies greatly.