

УДК 631.811.4 6:635.652:581.134.4

**СОСТАВ АЗОТИСТЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЗЕРНА ФАСОЛИ В УСЛОВИЯХ
ПРЕОБЛАДАНИЯ ДВУХВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ
В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ**

М. Н. КОНДРАТЬЕВ

(Кафедра физиологии растений)

При полной обеспеченности растений азотом, фосфором, серой и другими питательными элементами большое значение в питании и формировании растениями урожая имеет соотношение в питательной среде между одно- и двухвалентными катионами, которое в значительной степени определяется видом сельскохозяйственной культуры, фазой развития растений и некоторыми другими факторами [1, 5, 6, 9].

По имеющимся данным [1], наилучшие условия для культурных растений создаются, когда двух- и одновалентные катионы находятся в питательной среде и в эквивалентно равных или близких к нему (2:3 и 3:2) соотношениях. В случае неизменного содержания одновалентных катионов при отношении двухвалентных катионов к одновалентным 4:1 и уменьшения доли кальция увеличение концентрации магния в питательной среде благоприятно отражалось на урожае ряда сельскохозяйственных культур.

Однако отмеченное выше положение преждевременно считать в качестве общего, так как исследователи [5, 6, 8] в значительном числе экспериментов, варьируя соотношение между магнием и калием, кальцием и калием, магнием и кальцием, выходили за пределы определенного соотношения между двух- и одновалентными катионами, что несколько усложняет интерпретацию полученных результатов.

Изучая влияние соотношений между магнием и кальцием на урожай и метаболизм азотистых соединений в растениях [2—4, 7] мы основывались на равенстве в питательной среде между двух- (Mg^{2+} и Ca^{2+}) и одновалентными (K^+ и Na^+) катионами. Было показано [2—4], что при значительном преобладании магния над кальцием или кальция над магнием в питательной среде урожай зерна фасоли и пшеницы снижался, но интенсивность накопления азотистых соединений в растениях увеличивалась, поэтому сбор белка с урожаем зерна в опытных вариантах был выше, чем в контроле.

В данной работе изучалось влияние соотношения между магнием и кальцием на урожай, динамику накопления белков и состав аминокислот зерна фасоли в условиях, когда в питательной среде сумма (мэкв) магния и кальция значительно преобладала над калием (3 : 1).

Объекты и методы исследования

Опыты проводились в песчаной культуре на половинной по азоту питательной смеси Арнона — Хогланда. Объект исследования — фасоль сорта Щедрая. Повторность в вариантах 7-кратная. Исследовались следующие соотношения между магнием и кальцием (мэкв на 10 кг песка): 37,5 : 112,5 — Са-вариант; 60 : 90 — контрольный вариант; 105 : 45 — Mg-вариант. Отношение суммы магния и кальция к калию во всех вариантах было одинаковым и составляло 150 : 50 (мэкв на 10 кг песка). Пробы зерна отбирали в фазы молочной (МС), восковой (ВС) и уборочной (УС) спелости при естественной влажности зерна соответственно 60—65, 40—45 и 15—20 %, фиксировали жидким азотом и лиофильно высушивали [2]. Азот во всех видах анализов определяли методом Кьельдаля, небелковый азот, свободные аминокислоты, суммарный и неэкстрактивный белки — из одной навески размолотого зерна после 6-кратной обработки (встряхивание на ротаторе 30 мин, центрифугирование при 20 000 г в течение 30 мин, температура 2—5°) боратным буфером pH 12,3 и осаждения суммарных белков ТХУК при pH 6. Остаток муки трижды промывали 2 %-ной ТХУК, высушивали и белки остатка принимали за не-

экстрактивные. В надосадочной жидкости после осаждения суммарных белков определяли небелковый азот и свободные аминокислоты. Последние дважды очищали на колонках с катионитом, элюируя их 4 н. HCl. Элюат выпаривали на водяной бане, а аминокислоты экстрагировали смесью этилового и н-бутилового спиртов (1 : 1), подкисленной до pH 2—3. Гидролиз суммарных и остаточных белков проводили в запаянных ампулах в 6 н. HCl при 105° в течение 24 ч. Свободные аминокислоты и аминокислоты гидролизатов белков определяли на аминокислотном анализаторе Hd-1200E.

Операции по фракционированию суммарных растворимых белков проводили в следующей последовательности: залив навески размолотого зерна соответствующим растворителем на ночь, встряхивание на ротаторе 30 мин, центрифугирование при 20 000 г 30 мин. Образцы обрабатывали каждым растворителем 6 раз в последовательности — бидистиллированная вода, 1 М KCl, карбонатный буфер pH 9,35, боратный буфер pH 12,3. Остаток муки, содержащий неэкстрактивные белки, трижды промывали 2 %-ной ТХУК и высушивали растворителями.

Результаты и обсуждение

В начале формирования и налива зерна не наблюдалось четких различий вариантов по урожайности, хотя в фазу молочной спелости растения Mg- и Са-вариантов, а в фазу восковой спелости — только Mg-варианта несколько превосходили контроль по интенсивности налива зерна (табл. 1). При значительном преобладании в питательной среде магния или кальция урожай зерна к фазе уборочной спелости оказался более низким по сравнению с контролем. Урожайность в фазы восковой и уборочной спелости зерна в Mg-варианте была выше, чем в Са-варианте.

Динамика формирования массы зерна и накопления в нем запасных белков

Показатель	Молочная спелость			Восковая спелость			Уборочная спелость		
	варианты								
	Ca	конт- роль	Mg	Ca	конт- роль	Mg	Ca	конт- роль	Mg
Масса зерна*, г/сосуд	5,2	4,0	4,8	23,0	24,6	25,7	35,8	41,6	38,4
$N_{\text{бел}} : N_{\text{небел}}$	1,21	2,19	2,31	1,87	1,30	1,81	8,79	1,67	4,09
Накопление белков:									
мг/100 г сухой массы	1500	1830	1720	1420	1270	1410	1790	1230	1640
мг/сосуд	780	730	830	3270	3110	3620	6420	5120	6310

* В фазу молочной спелости $D/m_D > 3$ между Ca-вариантом и контролем, контролем и Mg-вариантом, < 3 между Mg- и Ca-вариантами; для остальных фаз $D/m_D > 3$ между Ca-вариантом и контролем, контролем и Mg-вариантом; Mg- и Ca-вариантами.

Относительное содержание общего азота в зерне всех вариантов уменьшалось от фазы молочной спелости к уборочной, по-видимому, в основном за счет накопления в зерне крахмала и жиров. Последнее связано с использованием в данном опыте питательной смеси с половинной дозой азота. К фазе уборочной спелости зерно в Mg- и Ca-вариантах превосходило контрольное по относительному содержанию общего азота, что определяется накоплением азота белковой фракции в основном в период между восковой и уборочной спелостью. Содержание небелковых азотистых соединений было наибольшим в контроле.

Постоянный рост соотношения белкового и небелкового азота характерен лишь для Ca-варианта (табл. 1). В фазу уборочной спелости оно в этом варианте достигало максимального значения, что говорит об интенсивном биосинтезе белков в зерне за счет азотистых соединений небелковой фракции (рис. 1). В целом с фазы восковой спелости интенсивность биосинтеза белков (соотношение белкового и небелкового азота) в зерне Ca- и Mg-вариантов значительно выше по сравнению с контролем, а в фазу уборочной спелости в первом случае она больше, чем в последнем.

Синтез белков в фазу молочной спелости зерна, по всей видимости, не достигает максимума, о чем говорит наличие значительного фонда свободных аминокислот. В период между молочной и восковой спелостью, когда быстро возрастают объем зерна и приток в него веществ углеводной природы, относительное содержание белков в зерне несколько уменьшается (рис. 1), хотя интенсивность их биосинтеза довольно высока (фонд свободных аминокислот уменьшается в 4—5 раз). Характер воздействия магния и кальция в названные фазы спелости на биосинтез, приток и накопление в зерне свободных аминокислот, белков одинаков.

В фазу молочной спелости в зерне растений контрольного варианта содержалось наибольшее количество как белков, так и свободных аминокислот (рис. 1),

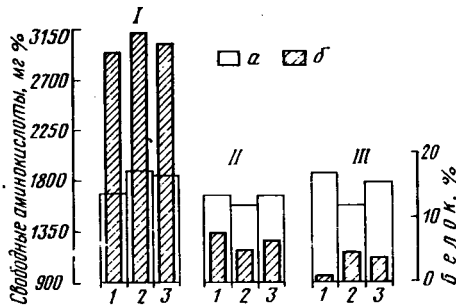


Рис. 1. Динамика содержания белков (а) и свободных аминокислот (б) в абсолютной сухой массе зерна фасоли в процессе его формирования.

1—3 — варианты опыта; I — молочная спелость; II — восковая; III — уборочная спелость.

а в фазу восковой спелости — наименьшее. Аналогичное соотношение между содержанием фонда свободных аминокислот и белков проявляется у растений Mg- и Ca-вариантов. На наш взгляд, это можно объяснить воздействием магния и кальция как на биосинтез и приток в зерно аминокислот, так и на процесс синтеза белков, который в основном происходит за счет свободных аминокислот, притекающих в зерно из вегетативных органов.

Высказанное положение подтверждается сопоставлением количества свободных аминокислот и содержания белков в зерне. Такая связь должна более четко проявляться при выращивании растений на питательной среде с относительно невысоким содержанием азота, когда приток в зерно азотистых веществ из вегетативных органов и створок бобов в основном прекращается в фазе восковой спелости. Это явление лучше выражено в зерне растений Mg- и Ca-вариантов, где относительное содержание небелковой фракции азота снижалось от молочной к уборочной спелости. У растений этих вариантов при меньшей по сравнению с контролем урожайности содержание в зерне белков более высокое.

Представлялось интересным проследить, за счет каких фракций суммарного белка произошло увеличение содержания белков в зерне Mg- и Ca-вариантов (рис. 2). В исследованные фазы спелости динамика накопления отдельных фракций белков была сходной при всех соотношениях магния и кальция в питательной среде, однако отмечались определенные различия в количестве белков каждой фракции и их соотношении между собой.

К уборочной спелости содержание белков в зерне в Mg-варианте повышалось в основном за счет увеличения содержания водорастворимой фракции и остаточных белков, а в Ca-варианте — за счет увеличения белков, растворимых в боратном буфере и также остаточных. По содержанию в суммарном белке зерна солерастворимых белков, основных запасных белков фасоли растения обоих опытных вариантов уступали контролю.

Изменения во фракционном составе белков, обусловленные различными соотношениями магния и кальция в питательной среде, предопределили изменения в аминокислотном составе суммарных экстрактивных белков и белков остатка (табл. 2). Более всего соотношение магния и кальция отразилось на содержании лизина, аспарагиновой кислоты + аспарагина, глутаминовой кислоты + глутамина и лейцина (табл. 2), а в группе остаточных белков — на содержании гистидина, аргинина, аспарагиновой, глутаминовой кислот и их амидов, пролина, валина, лейцина и некоторых других.

Исследуемые соотношения магния и кальция во все фазы спелости зерна весьма существенно изменяли содержание группы незаменимых аминокислот как в фонде свободных аминокислот, так и в составе экстрактивных и остаточных белков зерна. В зерне растений

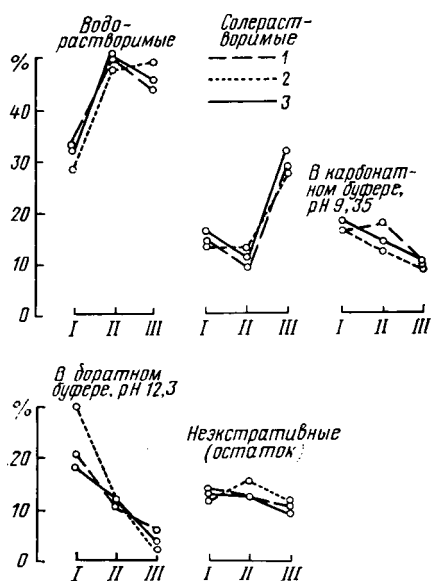


Рис. 2. Динамика формирования фракционного состава белков зерна фасоли (% от содержания белкового азота).

1—3 — варианты опыта. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Содержание аминокислот в экстрактивных (числитель)
и неэкстрактивных (знаменатель) запасных белках зерна фасоли
(% от суммы аминокислот)

Аминокислоты	Молочная спелость			Восковая спелость			Уборочная спелость		
	варианты								
	Са	конт- роль	Mg	Са	конт- роль	Mg	Са	конт- роль	Mg
Лизин	6,8	6,9	4,8	5,9	5,2	5,6	6,1	7,4	6,6
	4,3	4,4	4,7	5,1	4,4	4,2	5,1	5,0	5,4
Гистидин	2,8	2,9	1,9	3,0	2,8	3,1	3,3	3,2	3,3
	2,2	2,0	3,9	2,7	1,6	2,6	2,5	2,5	Сл.
Аргинин	4,4	4,2	2,7	4,4	4,1	3,8	3,8	4,1	4,2
	3,8	3,7	3,8	3,5	3,0	3,6	5,7	2,5	2,4
Аспарагиновая + аспа- рагин	12,8	12,4	11,4	12,1	11,5	13,8	11,9	12,1	12,9
	11,8	11,3	10,5	11,8	9,6	11,4	10,6	13,1	11,7
Треонин	5,0	4,9	6,0	6,2	5,7	5,2	6,0	6,1	6,2
	8,3	7,9	7,4	6,1	4,7	6,4	4,0	5,3	4,3
Серин	7,0	5,7	7,1	6,5	5,4	6,7	6,2	6,4	6,4
	5,6	5,0	7,9	6,0	6,5	6,6	5,5	4,7	6,7
Глутаминовая + глю- тамин	13,6	13,0	11,7	12,3	14,2	14,2	13,4	12,4	14,3
	10,5	11,5	11,3	12,3	13,2	11,6	9,0	11,6	11,3
Пролин	3,5	5,1	7,8	4,5	4,9	4,8	4,5	4,2	4,6
	5,3	6,1	5,5	5,7	4,7	5,8	8,1	5,0	13,2
Глицин	7,0	7,9	7,4	7,8	8,5	7,8	7,4	7,8	7,8
	8,7	9,4	10,6	9,2	14,9	9,3	8,7	9,6	8,5
Аланин	7,6	7,4	8,0	8,1	7,5	6,9	7,8	8,0	7,1
	9,4	8,2	9,8	8,4	11,0	9,6	8,1	8,8	10,2
Валин	7,3	5,4	5,6	6,6	6,9	6,7	6,2	6,2	6,2
	8,0	8,1	6,4	6,8	6,4	7,9	7,6	8,5	Сл.
Метионин	1,2	1,4	1,0	1,4	1,2	0,8	1,2	1,3	1,1
	2,3	2,3	1,4	1,5	1,5	1,6	1,0	1,3	Сл.
Изолейцин	3,9	3,8	4,4	3,8	3,7	3,7	3,6	3,2	3,6
	4,1	4,2	3,6	4,3	4,0	4,3	4,9	4,8	5,2
Лейцин	10,2	9,3	12,2	8,8	8,9	9,0	9,9	8,4	7,4
	9,1	9,3	7,9	9,8	9,5	9,3	12,1	11,5	15,0
Фенилаланин	2,5	3,4	2,9	3,1	3,1	2,9	3,1	3,2	3,3
	4,4	4,5	4,0	4,6	3,3	3,9	4,9	4,9	5,0
Тирозин	4,9	6,2	5,1	5,3	6,1	5,1	5,8	6,0	5,0
	2,2	2,3	1,3	2,1	1,8	1,7	2,0	1,1	1,1

Mg-варианта в фазу уборочной спелости относительное содержание незаменимых аминокислот было наименьшим. Са-вариант по содержанию свободных незаменимых аминокислот в зерне превосходил другие варианты опыта, по содержанию незаменимых аминокислот в экстрактивных белках был близок к контролю, а по их содержанию в остаточных белках занимал среднее положение между Mg-вариантом и контролем.

Следовательно, высокие концентрации магния в питательной среде оказывают отрицательное воздействие на биосинтез в растениях незаменимых аминокислот и включение их в запасные белки. Высокие концентрации кальция, наоборот, приводят к накоплению незаменимых аминокислот в фонде свободных аминокислот зерна в фазу уборочной спелости, но практически не влияют на их включение в состав запасных бел-

ков. Содержание незаменимых аминокислот в остаточных белках было выше, чем в экстрактивных.

Ранее нами отмечалось наличие обратной связи между урожайностью и содержанием белков в зерне фасоли (табл. 1). Однако не было выявлено связи между содержанием незаменимых аминокислот в фонде свободных аминокислот, в составе экстрактивных и неэкстрактивных белков, с одной стороны, и пулом свободных аминокислот и общим содержанием белков в зерне — с другой, что, по-видимому, объясняется участием ионов магния и кальция в качестве кофакторов в целом ряде процессов азотного метаболизма растений [9, 10].

Для расчета биологической ценности (БЦ) белков зерна фасоли мы использовали метод сравнения их аминокислотного состава с составом аминокислот белков куриного яйца [11]. БЦ последних условно принята за 100%. При расчете БЦ белков названным методом отношение исследуемые белки: белки куриного яйца должно быть меньше 1, даже если содержание той или иной незаменимой аминокислоты, входящей в состав исследуемых белков, больше, чем в белке яйца (в этом случае числитель и знаменатель меняются местами).

Наряду с критерием биологической ценности белков мы рассмотрели дополнительный показатель — пищевую ценность (ПЦ) белков, которая рассчитывалась на основе приведенной выше методики [11] с той разницей, что при значении соотношения незаменимых аминокислот исследуемого образца и стандарта больше 1 оно оставалось неизменным. В данном случае мы отступаем от исходного положения об идеальной сбалансированности незаменимых аминокислот в белке куриного яйца, но получаем возможность оценить достоинство белков исследуемого образца в пищевом отношении.

Как отмечалось нами ранее [2—4], БЦ экстрактивных белков понижается от молочной к уборочной спелости зерна. Аналогичная ситуация наблюдалась и в данном исследовании (рис. 3). Разделение общего белка зерна на суммарный экстрактивный и неэкстрактивный обычно проводится с целью определения их БЦ и ПЦ, поскольку значительная часть неэкстрактивных белков отщущается при помоле с отходами мукомольного производства.

Следует отметить, что БЦ и ПЦ неэкстрактивных белков выше, чем экстрактивных. Различная обеспеченность растений магнием и кальцием оказывает существенное воздействие на формирование качества обеих групп белков (рис. 3). В фазу уборочной спелости зерна наибольшей БЦ в группе экстрактивных белков обладают белки зерна в Са-варианте, а ПЦ — в контроле. Са-вариант по БЦ и ПЦ экстрактивных белков зерна превосходит Mg-вариант, но уступает последнему по БЦ и ПЦ неэкстрактивных белков.

В отдельные фазы развития зерна наблюдается прямая связь между накоплением в нем экстрактивных и неэкстрактивных белков и ростом их биологической и пищевой ценности (рис. 3). Так, у растений

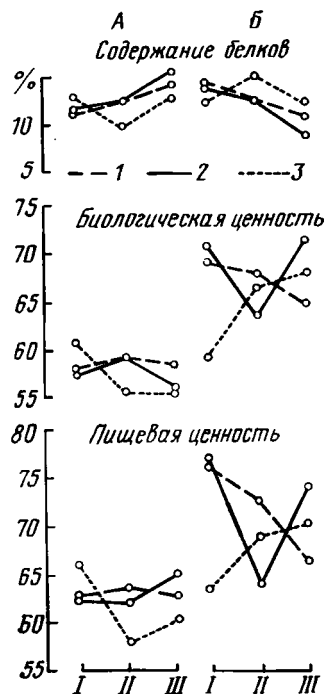


Рис. 3. Динамика формирования биологической и пищевой ценности белков зерна фасоли.

А — экстрактивные; Б — неэкстрактивные белки. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1 и 2.

Mg-варианта и контрольных накопление в зерне экстрактивных белков шло параллельно с увеличением их ПЦ, а у растений Ca-варианта рост БЦ и ПЦ отмечался только для неэкстрактивных белков.

Выводы

1. На фоне существенного преобладания в питательной среде двухвалентных катионов над одновалентными дальнейшее расширение соотношений между магнием и кальцием приводит к достоверному снижению урожая зерна, однако в нем возрастает содержание запасных белков.

2. Высокая концентрация ионов магния в питательной среде обуславливает увеличение доли водорастворимой фракции и остаточных неэкстрактивных белков в зерне, а высокая концентрация ионов кальция — доли белков, растворимых в боратном буфере, и неэкстрактивных белков.

3. Изменения во фракционном составе экстрактивных белков зерна фасоли, вызванные изменением соотношения магния и кальция в питательной среде, повлияли на содержание аминокислот в суммарных белках. Наибольшие колебания отмечены для содержания лизина, лейцина, изолейцина, аспарагиновой и глютаминовой кислот и их амидов.

4. Зерно растений, выращенных на питательной среде с высокой концентрацией ионов магния или кальция, характеризуется более высоким содержанием белков, но обладает пониженной по сравнению с контролем биологической и пищевой ценностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жуков М. С. К вопросу о значении для растений соотношения катионов в почве. — Почвоведение, 1963, № 12, с. 64—68. — 2. Кондратьев М. Н. Формирование белкового комплекса зерна пшеницы и фасоли при различной обеспеченности растений магнием и кальцием. — Химия в сельск. хоз-ве, 1980, № 7, с. 27—29. — 3. Кондратьев М. Н., Крищенко В. П. Влияние соотношения магния и кальция в питательной среде на фракционный и аминокислотный состав белка в зерне пшеницы. — Изв. ТСХА, 1971, вып. 5, с. 91—100. — 4. Кондратьев М. Н., Плешков А. С., Плешков Б. П. Динамика накопления азотистых соединений и метаболизм аминокислот в процессе налива зерна яровой пшеницы при различных соотношениях магния и кальция в питательной среде. — Физиол. растений, 1974, т. 21, № 4, с. 762—767. — 5. Петербургский А. В., Нелюбова Г. Л., Аброшина Л. С. Влияние соотношения K:Ca в питательной среде на развитие и урожайность томатов и фасоли. — Изв. ТСХА, 1968, вып. 3, с. 92—97. — 6. Пиневич В. В. Влияние минеральных удобрений на качественный состав белков пшеницы. — Докл. АН СССР, 1952, т. 87, № 3, с. 501—504. — 7. Плешков Б. П., Кондратьев М. Н. Азотистые соединения проростков пшеницы при дефиците магния и кальция в питательной среде. — Изв. ТСХА, 1971, вып. 6, с. 86—94. — 8. Трещов А. Г., Черноклинова В. А. Влияние магния на углеводный обмен в растениях ячменя. — Химия в сельск. хоз-ве, 1970, № 2, с. 25—26. — 9. Шкляев Ю. Н. Магний в жизни растений. М.: Наука, 1981. — 10. Agüi M. I., Alvarez T. M. C. — Arg. Pharm. Rev. Fac. Farm., 1980, vol. 21, N 2, p. 145—161. — 11. Korpczy J., Lindner K., Varga K.-J. Qual. Plant. Mater. Veget., 1961, vol. 8, N 2, p. 86—91.

Статья поступила 25 мая 1982 г.

SUMMARY

Under conditions of a vegetative experiment in sandy culture the influence was studied of Mg—Ca ratio in nutritive substrate on the rates of accumulation of general nitrogen and its fractions in a common bean grain, on the content of amino-acids in free stock and reserve proteins, on the rates of formation of biological and food value of common bean grain protein (the Mg—Ca ratio between monovalent and double-valent basic ions was constant equalling 3 to 1). Changes in the mentioned nitrogenous compounds were found with the changes of ratios between Mg and Ca, Mg and K, Ca and K. A reverse dependence was shown between the yield of grain and its protein content, as well as between protein content and their biological and food value.