

УДК 633.15:581.134.4

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВ ЭНДОСПЕРМА ЗЕРНА ОБЫЧНОЙ И ВЫСОКОЛИЗИНОВОЙ КУКУРУЗЫ

В. Ф. ВОЛОБУЕВА, Б. П. ПЛЕШКОВ

(Кафедра агрономической и биологической химии)

Белковый комплекс эндосперма зерна кукурузы, как известно, почти наполовину представлен биологически неполноценным спирторастворимым белком — зеином, в котором практически отсутствуют лизин, метионин и триптофан. Введение гена опейк-2 (o_2) в различные генотипы кукурузы приводит к резкой трансформации этого комплекса: количество зеина снижается в 2—3 раза, содержание других фракций, более сбалансированных по аминокислотному составу, — увеличивается [2, 3]. Представляет интерес выяснить, происходит ли при этом только количественное перераспределение фракций или указанные изменения затрагивают компонентный состав каждой фракции? Подобные изменения, если они существуют, могут повлечь за собой изменения электрофоретического спектра отдельных белков. Поскольку число и характер белковых компонентов детерминируются определенной частью генома, не зависят от места и года реп-

родукций растений и очень тонко отражают изменения в его структуре, электрофоретические белковые спектры являются генотипическими показателями и могут представлять значительный интерес при селекции кукурузы на качество белка. В частности, по ним можно судить о действии гена o_2 на синтез индивидуальных белков. Нами изучалось влияние гена o_2 на компонентный состав отдельных белковых фракций суммарного белка эндосперма зерна обычной кукурузы и ее высоколизинового аналога.

Материал и методы

Объектом исследования было зерно кукурузы двойного межлинейного гибрида Краснодарский 309 (+/+) и его высоколизинового аналога Краснодарский 309 (o_2/o_2). Методика подготовки проб зерна для анализов описана нами ранее [2].

Компонентный состав водорастворимых, солерастворимых белков определяли по методике дискового электрофореза с некоторыми изменениями [4]. Белки разделяли в щелочных и кислых буферных системах. Электрофорез проламинов (зеина) проводили в 7% полиакриламидном геле в кислой буферной системе [1]. Для анализов использовали венгерскую электрофоретическую камеру фирмы «Reanal» с заменой угольных электродов платиновыми и стеклянные трубки размером 7,5×0,5 см. Сигнальным красителем для разделения водорастворимых и солерастворимых белков при работе со щелочным гелем служил бромфеноловый синий, а с кислым гелем — метиловый зеленый. Электрофоретические проламинов содержат специфические компоненты или группы их, они занимают в спектре строго фиксированное положение. Вследствие этого исключается необходимость идентифицировать компоненты по электрофоретической подвижности с помощью метчика.

Относительная подвижность белковых компонентов водорастворимых и солерастворимых белков рассчитана минимум из 6

параллельных электрофореграмм при отклонении от средней $\pm 0,02$.

Результаты исследований

Водорастворимые белки зерна кукурузы характеризуются большой гетерогенностью (рис. 1). При их разделении в щелочном геле pH 8,9 у обоих генотипов отмечена одинаковая закономерность в изменении компонентного состава (рис. 1, А). Через 15 дней после опыления обнаружено 8 компонентов, среди которых преобладали белки с относительной электрофоретической подвижностью (ОЭП) 0,12; 0,25; 0,37 и 0,70. В процессе созревания зерна происходили количественные и качественные изменения компонентного состава водорастворимых белков. Через 20 дней после опыления число компонентов у обоих генотипов увеличилось до 12, через 30 дней — до 14, через 40 дней и в зрелом зерне — до 16. В первый период созревания в наибольшем количестве содержались компоненты с ОЭП 0,12; 0,25; 0,52; 0,57 и 0,70; в зрелом зерне — с ОЭП 0,19; 0,25; 0,33; 0,38; 0,43; 0,47 и особен-

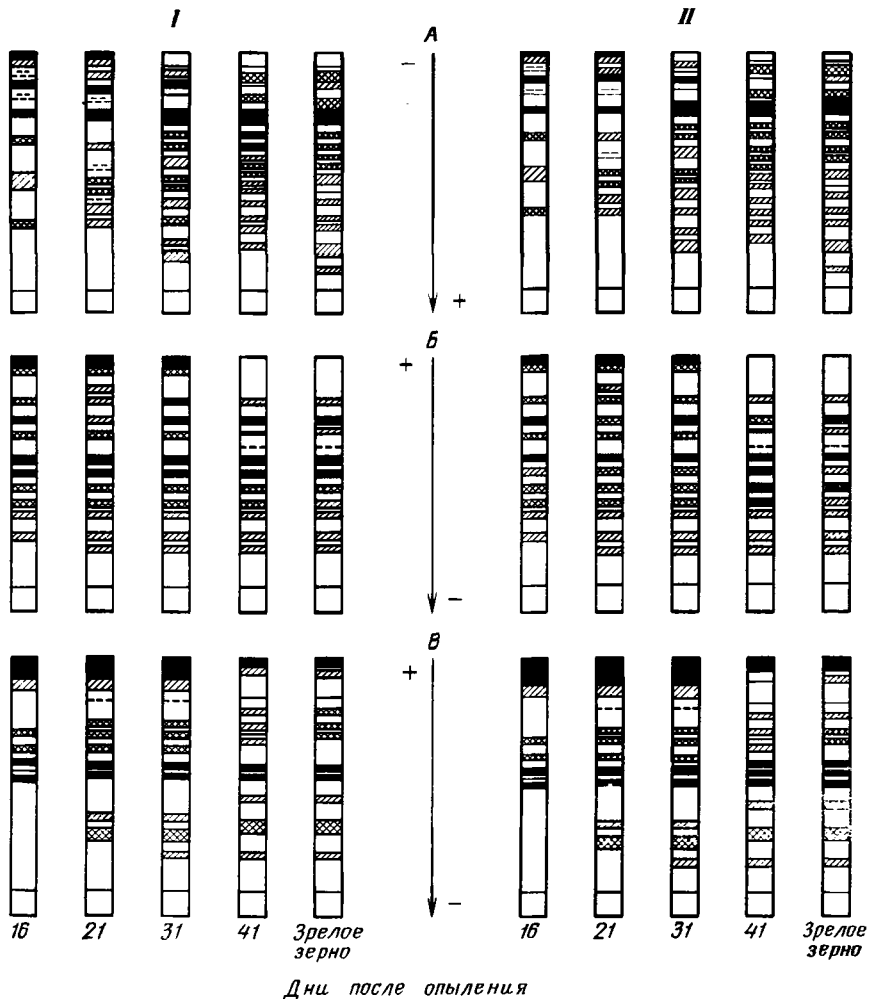


Рис. 1. Электрофоретический состав водорастворимых белков эндосперма зерна кукурузы разных генотипов в процессе созревания.

I — Краснодарский 309 + / +; II — Краснодарский 309 o₂/o₂; А — щелочной гель при pH 8,9; Б и В — кислый гель при pH соответственно 4,3 и 2,9.

но с ОЭП 0,25. Компоненты с ОЭП 0,08; 0,12; 0,25 и 0,70 являлись стабильными и присутствовали во все фазы развития зерна у обоих генотипов. При этом фракции белков с ОЭП 0,08 и 0,25 по мере созревания зерна дают более широкую четкую зону, а компонент с ОЭП 0,70 — менее четкую. Белковый компонент с подвижностью 0,17 обнаружен во все периоды созревания, кроме полной спелости, а белки с ОЭП 0,37 присутствовали в обоих генотипах лишь через 15 и 20 дней после опыления. К 31-му дню у двух генотипов появлялись компоненты с ОЭП 0,33 и 0,38, которые имелись и в зрелом зерне. По мере созревания зерна у обоих генотипов увеличивается число быстроподвижных компонентов, но количество их невелико.

При разделении водорастворимых белков в кислом геле рН 4,3 качественных их различий у генотипов также не отмечено (рис. 1, Б). Компонентный состав и в этом случае характеризовался большой гетерогенностью; электрофоретический спектр представлен медленно, средне- и быстроподвижными компонентами. Начиная с 41-го дня после опыления у обоих генотипов появляется три новых медленноподвижных компонента с ОЭП 0,29; 0,30 и 0,38, из которых в зрелом зерне присутствуют лишь два последних. Компонент с ОЭП 0,32, отмеченный в начале развития зерна у обоих генотипов, на 41-й день исчез. Через 20 дней после опыления у обоих генотипов обнаружен медленноподвижный компонент (0,12).

Выявлены некоторые количественные различия основных компонентов в спектре изучаемых белков данных генотипов кукурузы во все фазы созревания. У обычного гибрида преобладал среднеподвижный компонент (0,48), а у o_2 -аналога с 41-го дня после опыления и до конца созревания

— компонент с ОЭП 0,54, на 41-й день — с ОЭП 0,54 и 0,51.

При электрофоретических исследованиях водорастворимых белков в кислом геле рН 2,9 установлен несколько иной их компонентный состав (рис. 1, В). От начала развития зерна до полной спелости у обычного гибрида число белковых компонентов возросло от 6 до 11, в то время как у его высоколизинового аналога — от 6 до 13. Через 15 дней после опыления у обоих генотипов преобладали компоненты с ОЭП 0,48 и 0,54, кроме того, появились три новые белковые фракции с подвижностью 0,20; 0,70 и 0,78. К 3-му дню после опыления у высоколизинового аналога преобладали три основных компонента с ОЭП 0,44; 0,48 и 0,52, а в зрелом зерне — четыре с подвижностью 0,43; 0,44; 0,48 и 0,52. Белковый компонент с ОЭП 0,44 отмечен у высоколизинового аналога через 25 дней после опыления, а с подвижностью 0,43 — через 40 дней. У простого гибрида во все фазы развития в наибольшем количестве встречались компоненты с ОЭП 0,48 и 0,52, а компоненты с подвижностью 0,43 и 0,44 вообще отсутствовали. По другим компонентам водорастворимых белков оба генотипа не различались.

В зрелом зерне состав белковых компонентов меняется. Появляются новые, медленно- и быстромигрирующие компоненты, однако количество их незначительное. На старте (подвижность 0) в течение всего срока созревания у обоих генотипов обнаруживается фракция, которая образует широкую зону, и только к 41-му дню количество ее резко уменьшается.

Ген o_2 не влияет на компонентный состав кислых водорастворимых белков эндосперма зерна кукурузы, но вызывает некоторые изменения в составе щелочных белков.

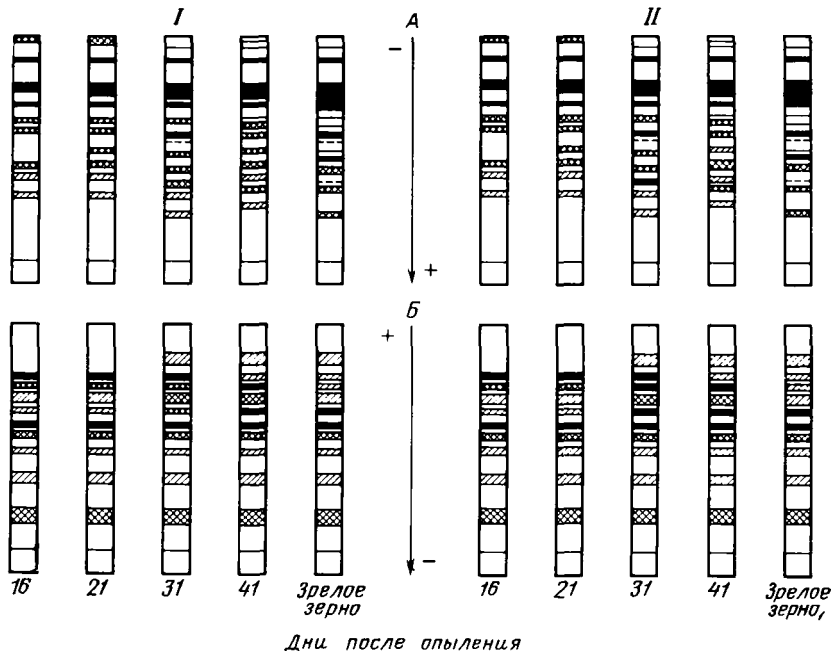


Рис. 2. Электрофоретический состав солерастворимых белков эндосперма зерна кукурузы разных генотипов в процессе созревания.

Обозначения те же, что на рис. 1.

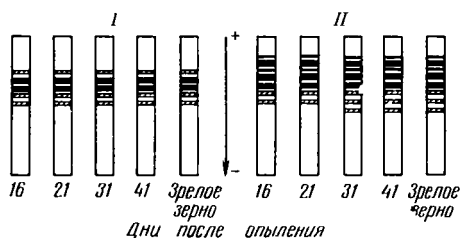


Рис. 3. Электрофоретический состав спирторастворимых белков эндосперма зерна кукурузы разных генотипов в процессе созревания.

I — Краснодарский 309 o_2/o_2 ; II — Краснодарский 309 +/+.

При электрофорезе глобулинов в щелочном геле рН 8,9 четких различий между генотипами по компонентному составу не обнаружено (рис. 2, А). На ранних этапах развития зерна у обоих генотипов в спектре изучаемых белков отмечалось 8 компонентов, на 21-й день после опыления — 9, с 31-го дня насчитывалось уже 12, а в зрелом зерне — 13 компонентов. В процессе созревания зерна в данной фракции появляются одни компоненты и исчезают другие. Компоненты с подвижностью 0,10; 0,22 и 0,30 являются стабильными и присутствуют во все фазы созревания. При этом компонент с ОЭП 0,22 по мере созревания зерна количественно увеличивается и в фазу полной спелости образует широкую зону.

Электрофоретический спектр глобулинов обычного гибрида и его o_2 -аналога при разделении в кислом геле рН 4,3 идентичен во все фазы созревания и отличается большой стабильностью (рис. 2, Б). Лишь на 31-й день после опыления у обоих генотипов в данной фракции белков появляется медленноподвижный компонент, причем в небольшом количестве, и присутствует до конца созревания. В процессе созревания изменяется лишь содержание отдельных компонентов, но характер его изменения у данных генотипов одинаковый. Медленноподвижный компонент с ОЭП 0,23 преобладает вплоть до 31-го дня после опыления, в более поздние фазы созревания он обнаруживается в незначительных количествах. Среднеподвижный компонент (подвижность 0,55) преобладает на 31-й и 41-й день после опыления, в остальные сроки созревания его содержание невысокое.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилюк И. П., Губарева Н. К., Конарев В. Г. Выделение, фракционирование и идентификация белков, используемых в геномном анализе культурных растений. — Тр. по прикл. бот., селек. и генет., 1973, т. 52, вып. 1, с. 249—278. — 2. Плешков Б. П., Волобуева В. Ф., Синягин Е. И. Изменчивость состава белков обычной кукурузы и ее высоколизинового аналога в процессе созревания. — Вест. с.-х.

Таким образом, введение гена o_2 в генотип обычной кукурузы не приводит к каким-либо характерным изменениям компонентного состава глобулинов эндосперма зерна.

При электрофоретическом исследовании зейна установлены изменения компонентного состава данной фракции в результате введения гена o_2 в генотип обычной кукурузы (рис. 3). Так, у обычной формы кукурузы на 16-й и 21-й дни после опыления обнаружено 7 компонентов, на 31-й день появляется 8-й быстроподвижный компонент, в то время как у опейкового аналога во все фазы созревания присутствует только 5 компонентов. Вероятно, под влиянием гена o_2 происходит репрессия синтеза некоторых компонентов зейна у o_2 -аналога уже на ранних этапах развития зерна.

Заключение

Электрофоретические исследования отдельных белковых фракций эндосперма зерна изучаемых генотипов кукурузы показали различный характер изменчивости их компонентного состава в процессе созревания. Введение гена опейк-2 в генотип обычного гибрида не вызывает существенных изменений в компонентном составе водорастворимых белков при электрофорезе в щелочном геле рН 8,9. При разделении в кислом геле рН 4,3 обнаружены лишь некоторые количественные различия отдельных компонентов. В то же время при электрофорезе в кислом геле рН 2,9 состав данных белков o_2 -аналога отличается от белков исходной формы наличием двух основных компонентов, которые обнаруживаются через 25 и 40 дней после опыления.

Компонентный состав глобулинов при разделении как в щелочном, так и в кислом геле существенно не различался. Электрофоретический спектр данной фракции у обоих генотипов стабилен во все фазы созревания.

Напротив, компонентный состав зейна у изучаемых генотипов был различным: у обычного гибрида на 16-й и 21-й день после опыления в зейне обнаружено 7 компонентов, на 31-й день — 8-й быстроподвижный компонент, а у o_2 -аналога — во все фазы только 5 компонентов. По-видимому, происходит репрессия синтеза некоторых компонентов зейна геном o_2 .

науки, 1975, № 4, с. 68—74. — 3. Рядчиков В. Г. Улучшение зерновых белков и их оценка. М.: Колос, 1978. — 4. Сафонов В. И., Сафонова М. П., Вейденберг А. Э. Анализ белков методом вертикального микроэлектрофореза в полиакриламидном геле. — Метод. рук.-во. М.: Моск. отд. Всесоюз. биохим. об-ва ИФР, 1968.

Статья поступила 3 февраля 1983 г.

SUMMARY

Electrophoresis method in polyacrylamide gel showed that the introduction of the opaque-2 gene (o_2) into the genotype of common corn exercised no substantial influence on component composition of albumines under separating them in alkaline (pH 8.9) and

acid (pH 4.3) gels. With separating in the acid gel (pH 2.9) the component composition of albumins of o_2 -analogue differs from the original hybrid in that it has two main components. Globulins being separated both in alkaline and in acid gels had no considerable differences.

With normal hybrid 7 components were found in zein at 16 and 21 days after pollination. At 31 days the eighth quickly-moving component appears, while with o_2 -analogue 5 components are present in the electrophoresis spectrum at any stage of maturation. Repression of some zein components synthesis by o_2 gene is likely to take place.