

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Т. В. ОЛЕЙНИКОВА

**ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ НА ИЗМЕНЕНИЕ РАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ  
ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ**

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 18 III 1971)

В физиологических исследованиях последних лет, наряду с использованием метода электрофореза в полиакриламидном геле, стал применяться метод гель-фильтрации, позволяющий фракционировать белки по молекулярному весу. Изучение растворимых белков листьев пшеницы методом гель-фильтрации позволило выделить две основные фракции белка, различающиеся по молекулярному весу. Под влиянием обезвоживания растений эти фракции претерпевают некоторые количественные изменения, более резкие в первой фракции (<sup>1</sup>, <sup>2</sup>). Задачей данного исследования было выяснить влияние засухи на характер изменения растворимых белков листьев пшеницы.

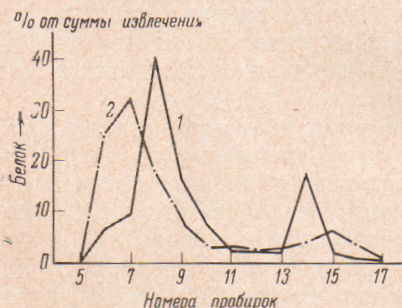


Рис. 1. Влияние засухи на распределение растворимых белков листьев пшеницы Эритроспермум 841 на колонке с гелем Сефадекс Г-100. 1 — контроль, 2 — засуха

Опыты проводили с двумя контрастными по отношению к засухе сортами пшеницы (Эритроспермум 841 — засухоустойчивый и Диамант — неустойчивый). Растения выращивались в теплице в вегетационных сосудах при 60% влажности почвы от полной влагоемкости. Во время формирования пыльца опытные растения обоих сортов были перенесены в суховейную камеру с контролируемыми условиями: в середине 14-часового светлого периода в течение 3 час. температура была 30°, а остальное время доходила до 25°; ночью 20°. Относительная влажность воздуха 50%, сила ветра 2,5 м/сек, освещенность на уровне растений 30 000 лк. Почвенная засуха создавалась путем прекращения полива. Пробы брали на 4 день после начала засухи, одновременно с опытных и контрольных растений. Для анализа на белок использовался второй лист сверху, закончивший рост. Оводненность листьев в момент взятия пробы составляла 72%, контрольных 83%.

Выделение и разделение белков методом диск-электрофореза проводили по общепринятой методике (<sup>3-5</sup>). Для фракционирования растворимых белков методом гель-фильтрации использовались колонки с гелем Сефадекс Г-100, размером 1,1 × 80 см, приготовленные по методике (<sup>6-8</sup>). На колонку осторожно наносили 2 мл супернатантной жидкости, полученной после центрифугирования (в течение 20 мин. при 17 000 об/мин) гомогената растворимых белков, очищенных от низкомолекулярных примесей на колонке с биогелем 2. Элюирование исходных белков через колонки с гелем (Сефадекс Г-100) проводилось триглицидным буфером (рН 8,3). Элюат собирался при помощи коллек-

тора фракций в отдельные пробирки по 4,2 мл в каждой. Общая скорость элюирования 16 мл/час. Количество белка в каждой пробирке определялось по Фолину (<sup>9</sup>).

Данные разделения растворимых белков листьев пшеницы Эритро-спермум 841 (методом гель-фильтрации на Сефадексе Г-100), приведены на рис. 1, из которого видно, что растворимые белки листьев как контрольных, так и опытных растений, подвергавшихся действию засухи, имеют два четко различающихся пика — две основные фракции белка. Первый пик приходится на объем элюирующего раствора 29—33 мл, т. е. на свободный объем колонки. Последнее указывает на то, что белки, входящие в этот пик, имеют молекулярный вес более 100 000. Второй пик приходится на объем элюирующего раствора 126 мл, что приблизительно соответствует молекулярному весу 20 000. Суммарное количество белка в первой фракции значительно больше, чем во второй. Кривые растворимых белков листьев неустойчивого сорта Диамант также имели две четко различающиеся фракции белка, как и у устойчивого сорта Эритроспермум 841, поэтому в работе они не приведены.

Под влиянием засухи белки, составляющие фракции 1 и 2, претерпевают некоторые изменения, особенно заметные в первой фракции. Белки опытных растений, входящие в эту фракцию, отличаются большей скоростью диффузии, чем белки контрольных растений, что указывает на

Таблица 1

Влияние засухи на изменение электрофоретической подвижности белков, входящих в пики

| Сорт              | Вариант  | Электрофоретическая подвижность различных полос белков |      |      |      |      |     | Степень замедления электрофоретической подвижности различных полос белков после засухи (по отношению к контролю) |     |     |     |  |
|-------------------|----------|--------------------------------------------------------|------|------|------|------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|--|
|                   |          | 0,23                                                   | 0,52 | 0,62 | 0,68 | 0,73 |     |                                                                                                                  |     |     |     |  |
| Диамант           | Контроль | 0,23                                                   | 0,52 | 0,62 | 0,68 | 0,73 |     |                                                                                                                  |     |     |     |  |
|                   | Засуха   | 0,10                                                   | 0,16 | 0,26 | 0,40 | 0,70 | 2,3 | 3,3                                                                                                              | 2,4 | 1,7 | 1,0 |  |
| Эритроспермум 841 | Контроль | 0,13                                                   | 0,25 | 0,36 | 0,75 | 0,78 |     |                                                                                                                  |     |     |     |  |
|                   | Засуха   | 0,08                                                   | 0,12 | 0,25 | 0,55 | 0,60 | 1,6 | 2,1                                                                                                              | 1,4 | 1,4 | 1,3 |  |

увеличение их молекулярного веса. Наибольшее содержание белка (пик) у растений, подвергавшихся засухе, падает на более раннюю фракцию, чем у контрольных растений. Это также свидетельствует о некотором сдвиге в молекулярном весе белков, входящих в этот пик.

Существует мнение, что симметричность формы и острота пика свидетельствуют о гомогенности белка (<sup>2</sup>). Для установления гомогенности белков, входящих в пики контрольных и опытных растений, они были разделены методом диск-электрофореза. Данные электрофоретической подвижности белков опытных и контрольных растений двух сортов пшеницы, различающихся по степени засухоустойчивости, приведены в табл. 1. Видно, что белки, входящие в пики опытных и контрольных растений, не являются гомогенными. Электрофоретическая подвижность белков листьев опытных растений обоих сортов гораздо меньше, чем тех же фракций белка контрольных растений, что соответствует общей направленности в изменении белков — увеличению молекулярного веса.

Представляют интерес результаты по определению степени замедления электрофоретической подвижности белков, входящих в пик у обоих сортов пшеницы. Степень замедления определялась путем деления показателя электрофоретической подвижности белков контрольных растений на этот же показатель опытных растений (табл. 1). Оказалось, что у слабо устойчивого сорта Диамант электрофоретическая подвижность отдельных фракций белка замедляется гораздо сильнее, чем у высоко устойчивого сорта Эритроспермум 841.

Установленная закономерность может служить некоторым показателем — индексом степени устойчивости сортов пшеницы к повреждающему действию засухи.

Научно-исследовательский институт растениеводства  
им. Н. И. Вавилова  
Ленинград

Поступило  
18 III 1971

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> C. A. Stutte, G. W. Todd, *Phyton*, 24, f. 2, 67 (1967). <sup>2</sup> Ф. Г. Мифтахутдинова, Сборн. Физиология водообмена и устойчивости растений, Казань, 1968, стр. 152. <sup>3</sup> B. J. Davis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 404 (1964). <sup>4</sup> В. И. Сафонов, М. П. Сафонова, *Физиол. раст.*, 16, в. 1, 161 (1969). <sup>5</sup> В. И. Сафонов, М. П. Сафонова, Там же, 16, в. 2, 350 (1969). <sup>6</sup> P. Flodin, *Dextran Gels and their Applications in Gel Filtration*, Uppsala, 1962. <sup>7</sup> L. Mendiola, T. Akazawa, *Biochemistry*, 2, 174 (1964). <sup>8</sup> Г. Детерман, *Гель-хроматография*, М., 1970. <sup>9</sup> O. H. Lowry, N. S. Rosebrough et al., *Biological Chemistry*, 193, 1, 265 (1951).