

В. И. БАБЕНКО, М. Л. НИГРЕЦКАЯ

ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ СПЕКТРОВ БЕЛКОВ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ Пониженных ТЕМПЕРАТУР

(Представлено академиком М. Х. Чайлаханом 3 V 1971)

В ходе обработки наклюнувшихся семян озимой пшеницы пониженными температурами у нее формируется потенциальная готовность к плодоношению. Было показано (¹⁻³), что белковые вещества в процессе яровизации семян подвергаются существенным изменениям, которые заметно влияют на физико-химические свойства плазмы. Оказалось, что при яровизации в семенах наблюдается перегруппировка различных белков, уменьшение более сложных и увеличение водорастворимых белковых фракций. В зародышах (⁹) яровизируемых семян озимой пшеницы происходит усложнение состава белков (за счет новообразования фракций с высокой электрофоретической подвижностью), в результате чего различия между характером легкоподвижных белков семян озимой и яровой пшеницы в значительной степени сглаживаются. Однако природа изменений белкового комплекса семян озимой пшеницы под влиянием яровизационного воздействия пониженных температур остается недостаточно выясненной. Задача нашей работы заключалась в исследовании качественного состояния суммарных водо-, соле-, спирто- и щелочерастворимых белков зародышей и эндоспермов семян озимой пшеницы в процессе яровизации. Для выявления процессов, специфичных для яровизационных изменений, была изучена яровая пшеница, а также динамика белков при прорастании семян озимой и яровой пшеницы в условиях комнатной температуры.

Исследовались озимые пшеницы Одесская 16, Безостая 1 и яровая пшеница Саратовская 29. Обработку холодом (2°, 4°) наклюнувшихся семян пшеницы проводили на протяжении 60 дней, проращивание при 20°, 25° в темноте продолжалось 15 дней. Зародыши и эндоспермы яровизируемых семян подвергали анализу через каждые 10 дней, проростки и эндоспермы прорастающих семян — через 5 дней. Фракционирование белков проводили по Ермакову (¹⁰) на холоду. Разделение белковых фракций на компоненты проводили методом диск-электрофореза в 7,5% полиакриламидном геле, рН 8,3 (¹¹).

Исследования показали (рис. 1), что обработка наклюнувшихся семян озимой пшеницы пониженными температурами, обуславливающая прохождение яровизационных процессов, приводила к существенной реорганизации у них системы легкорастворимых белков. Спустя 10 дней после начала такой обработки во фракции водорастворимых белков зародышей семян озимой пшеницы особенно заметные изменения происходили в зоне малоподвижных белков (R_f 0—0,25), где у Одесской 16 исчезло 4, а у Безостой 1 исчезло 3 компонента. Кроме того, у Безостой 1 было отмечено новообразование компонента с наиболее высоким значением R_f .

После 20-дневной обработки семян холодом в зоне малоподвижных водорастворимых белков зародышей у обоих сортов озимой пшеницы наблюдалось исчезновение одного из наименее подвижных компонентов. В это же время в нижней части этой зоны было отмечено появление нового компонента. В зоне высокоподвижных водорастворимых белков (R_f 0,75—1,00) у Одесской 16 появлялись новые два, а у Безостой 1 один компонент. Зона

среднеподвижных белков также претерпевала изменения, которые выразились в образовании у обоих сортов нового компонента и исчезновении у Одесской 16 одного из ранее образованных компонентов.

Следует отметить, что на протяжении первых 20 дней опыта существенных различий в характере изменения спектра водорастворимых белков зародышей семян озимой и яровой пшеницы не наблюдалось. Наиболее ярко такие различия проявлялись после завершения первой половины яровизационного периода, т. е. спустя 30 дней после начала обработки семян холодом, когда количество белковых компонентов у озимой пшеницы уменьшалось до 8—9, а у яровой продолжало составлять 12. У озимой пшеницы весьма характерным в этот период следует признать исчезнове-

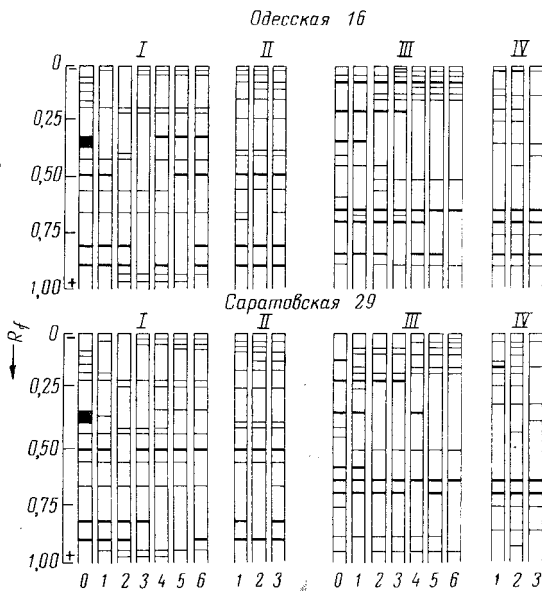


Рис. 1. Электрофореграммы суммарных водорастворимых белков зародышей, проростков и эндоспермов семян пшеницы при прорастании (+20, +25°) и обработке их холодом (+2, +4°). Зародыши (I) и эндоспермы (III) яровизируемых семян: 0 — до начала опыта (в наклонившемся состоянии), 1 — после 10 дней яровизации, 2 — после 20 дней, 3 — после 30 дней, 4 — после 40 дней, 5 — после 50 дней, 6 — после 60 дней. Проростки (II) и эндоспермы (IV) прорастающих семян: 1 — после 5 дней прорастания, 2 — после 10 дней, 3 — после 15 дней

лодовой обработке, изменениям не подвергалась. Это представляется очень важным, так как может расцениваться как проявление специфичности белкового метаболизма при яровизации семян озимой пшеницы.

Во второй половине яровизационного периода количество компонентов в суммарных водорастворимых белках зародышей семян озимой пшеницы вновь увеличивалось. К моменту завершения 60-дневной обработки холодом спектры водорастворимых белков зародышей озимой и яровой пшеницы почти не различались, что отмечалось также другими исследователями (9). Структура зон среднеподвижных белков у них была идентичной.

В отличие от зародышей изменения водорастворимой белковой фракции эндоспермов при обработке семян холодом не отражали специфичности, присущей яровизационному процессу. У всех трех сортов пшеницы здесь наблюдалось увеличение количества компонентов малоподвижной зоны, вероятно, за счет разукрупнения белков запасного характера. В то же вре-

ние 3 компонентов в зоне среднеподвижных белков, которым свойственна сравнительно высокая стабильность. Эта перестройка комплекса водорастворимых белков зародышей семян озимой пшеницы играет, по-видимому, важную роль в яровизационных процессах, так как она происходит в момент наиболее высокой метаболической активности яровизируемых семян, когда, по данным ряда авторов (12—14), у них наблюдается накопление значительных количеств подвижных метаболитов углеводно-азотистого обмена. Полученные данные о реорганизации системы водорастворимых белков, обладающих ферментативными свойствами, согласуются с наблюдениями других авторов (15—17), отмечавших повышение и смену активности различных ферментов в этот период.

Характерно, что, в отличие от озимой, у яровой пшеницы зона среднеподвижных белков зародышей семян, подвергшихся 30-дневной хо-

мя в зоне средне- и высокоподвижных белков происходило уменьшение количества компонентов.

Динамика компонентов спирторастворимой фракции белков зародышей в процессе обработки холодом семян озимой и яровой пшеницы имела сходный характер. Продолжительное пребывание семян при пониженных температурах способствовало увеличению белковых компонентов: после 20-дневной обработки их стало 6, а после 30—40-дневной 7—10. Последующая обработка вызывала у них уже уменьшение количества компонентов до 5—8. Сходный характер трансформации системы спирторастворимых белков зародышей семян исследованных сортов пшеницы, по-видимому, отражает одно из проявлений аналогичной для озимой и яровой пшеницы закономерной реакции на воздействие пониженных температур.

Спирторастворимая белковая фракция эндоспермов семян пшеницы отличалась заметно большим разнообразием, особенно в зоне малоподвижных белков. У яровой пшеницы образование этих белков было обнаружено лишь после 60-дневной холодовой обработки семян, в то время как у озимой пшеницы они образовывались значительно раньше.

Количество и электрофоретическая подвижность компонентов фракций солерастворимых белков зародышей в процессе обработки семян озимой и яровой пшеницы холодом характеризовались большим разнообразием. Так, спустя 10 дней после начала опыта у Одесской 16 и Безостой 1 было обнаружено по 8 белковых компонентов, у Саратовской 29 их было 6: после 30-дневной обработки, соответственно, 4, 7 и 9, после 50 дней 7, 6 и 6 и после 60 дней 5, 6 и 9. Общим для сортов, находившихся в опыте, было наличие компонента (R_f 0,5), который появлялся после начала обработки семян холодом и обнаруживался вплоть до окончания опыта.

Солерастворимая фракция белков эндоспермов, как и зародышей, характеризовалась значительным разнообразием количественного состава компонентов и их электрофоретической подвижности.

Щелочерастворимая фракция белков зародышей семян озимой и яровой пшеницы была представлена в течение опыта 2—3 компонентами, обладающими более или менее одинаковой электрофоретической подвижностью. Во время завершения опыта Одесская 16 имела 4, Безостая 1 имела 3, а Саратовская 29 имела 7 компонентов. В эндоспермах наклюнувшихся семян пшеницы было обнаружено по 8 компонентов щелочерастворимых белков, после 30-дневного периода опыта их было по 3, а после 60-дневного периода у Одесской 16 их было 3, у Безостой 1,7, а у Саратовской 29 было 9 компонентов.

При прорастании семян различных сортов пшеницы в условиях комнатной температуры их белковая система претерпевала изменения, не сходные с теми, которые происходили при обработке семян холодом. Характерные различия были обнаружены в структуре зоны среднеподвижных белков. В процессе прорастания семян озимой и яровой пшеницы водорастворимые белки этой зоны в проростках практически не претерпевали ощутимых изменений, в то время как в период 20—40-дневной обработки семян озимой пшеницы холодом здесь происходила весьма заметная перестройка. Зона высокоподвижных водорастворимых белков проростков исследованных сортов пшеницы в ходе прорастания оставалась стабильной (2 компонента). В случае обработки семян холодом эти белки претерпевали ощутимые изменения и характеризовались новообразованием 2 наиболее высокоподвижных компонентов. Таким образом, если водорастворимые белки обладают ферментативными свойствами, следует заключить, что регуляция всевозможных метаболических процессов, протекающих в зародышах и проростках семян пшеницы при разных температурах, связана с функционированием различных ферментных систем.

В эндоспермах прорастающих при комнатной температуре семян озимой и яровой пшеницы в отличие от семян, обработанных холодом 30 и более дней, в зоне R_f 0,25—0,5 водорастворимой белковой фракции не было обнаружено ни одного компонента.

Спирторастворимая фракция белков проростков при прорастании семян в условиях комнатной температуры состояла вначале из 2—3, а позднее — из 4—5 компонентов, включая 4 малоподвижных и 1 высокоподвижный. Между тем при обработке семян холодом в электрофоретическом спектре этих белков отсутствовали высокоподвижные, но были отмечены среднеподвижные компоненты.

Для процесса прорастания семян озимой и яровой пшеницы на всем его протяжении оказалось характерным наличие в суммарных спирторастворимых белках эндоспермов одного компонента в зоне R_f 0,25—0,5 и другого с величиной R_f , близкой 0,75, отсутствовавших в эндоспермах семян, обработанных холодом. Последние, в отличие от прораставших семян, имели хорошо выраженный компонент в зоне малоподвижных белков.

У прорастающих семян пшеницы солерастворимые белки проростков были представлены 6—9 компонентами. Спектры этих белков у разных сортов пшеницы при прорастании различались между собой значительно меньше, чем в случае обработки этих же сортов холодом. Одна из особенностей солерастворимых белков эндоспермов прорастающих семян озимой и яровой пшеницы — отсутствие компонентов в белковой зоне R_f 0,25—0,5.

Характерной особенностью щелочерастворимой фракции белков проростков семян при прорастании явилось присутствие хорошо выраженного компонента, отсутствовавшего в зародышах обработанных холодом семян.

Таким образом, прорастание семян озимой и яровой пшеницы при 20°, 25°, с одной стороны, и обработка их в наклюнувшемся состоянии пониженными температурами (2°, 4°), с другой, характеризуются различными особенностями белкового метаболизма. Об этом свидетельствует заметное различие электрофоретических спектров белковых фракций, которое обнаруживается как в зародышах и проростках, так и в эндоспермах семян. Один из признаков специфичности яровизационных процессов состоит в особом характере динамики водорастворимых белков в зародышах обработанных холодом семян озимой пшеницы. Специфическая характеристика электрофоретических спектров этих активных в ферментативном отношении белков, отсутствующая у яровой пшеницы, обнаруживается в зародышах семян озимой пшеницы лишь во время окончания первой — начала второй половины яровизационного периода.

Всесоюзный селекционно-генетический институт
Одесса

Поступило
28 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Рихтер, В. А. Ранцап, М. В. Пеккер, ДАН, № 2, 72 (1933).
² П. В. Савостин, М. М. Окунцов, Тр. Томск. ун-в., 86 (1934). ³ И. А. Филиппенко, ДАН, 3, № 4, 185 (1936). ⁴ И. Н. Коновалов, Тр. Инст. физиол. раст. АН СССР, 2, 2, 5 (1938). ⁵ В. Ю. Пашевич, Уч. зап. Московск. ун-в., Ботаника, 36 (1940). ⁶ А. В. Благовещенский, Г. А. Кириллова, ДАН, 100, № 1, 171 (1955). ⁷ М. И. Смирнова-Иконникова, Н. Д. Феофанова, Тр. по прикл. бот., генет. и селекции, 35, 2, 42 (1963). ⁸ С. В. Бирюков, В. И. Бабенко, Научно-технич. бюлл. Всесоюз. селекц.-генетич. инст., 7, 45 (1967).
⁹ Н. Тагаока, Plant and Cell Physiol., 8, 87 (1967). ¹⁰ А. И. Ермаков, В. В. Арасимович и др., Кн. Методы биохим. исследований раст., М., 1952, стр. 373.
¹¹ В. И. Сафонов, М. Н. Сафонова, Физиол. раст., 16, 2, 350 (1969). ¹² А. С. Кружилин, З. М. Шведская, Л. А. Алпатьева, Сборн. Физиол. устойч. раст., Изд. АН СССР, 1960, стр. 71. ¹³ П. Павлов, Л. Тянкова, Изв. на НИИ по растениеводство, 14, 79 (1962). ¹⁴ В. И. Бабенко, С. В. Бирюков, С.-х. биология, 3, 2, 227 (1968). ¹⁵ П. И. Демковский, Бюлл. яровизации, № 2—3, 105 (1932).
¹⁶ А. В. Благовещенский, Е. В. Колобкова, Н. А. Кудряшева, Тр. Главн. бот. сада, 2, 73 (1951). ¹⁷ Н. М. Сисаян, И. Н. Филиппович, Журн. общ. бпол., 14, № 3, 215 (1953).