

<https://doi.org/10.3176/biol.1973.2.06>

УДК 575.24 : 635.656

ЮТА ШИФРИН

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ И КАЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА У ХЕМОМУТАНТОВ ГОРОХА 'ТОРСДАГ III'

При химическом мутагенезе зернобобовых культур важнейшей задачей является выделение хозяйственно-ценных по содержанию белка форм. По сравнению с другими культурами белок гороха лучше усваивается животными организмами (Макашева, Осипова, 1953) и поэтому селекционеры уделяют особое внимание повышению и улучшению содержания протеина в горохе.

Одним из новых методов получения исходного материала для селекции растений является химический мутагенез. С помощью воздействия сильных химических агентов, так наз. супермутагенов, уже получен ряд сортов сельскохозяйственных культур и много перспективных форм. Среди хемомутантов гороха выделены формы, отличающиеся повышенным содержанием и улучшенным составом белка в зерне (Соболев, 1968; Соболев и др., 1971а; Быковец, Васякин, 1971; Сидорова, 1971).

Работа проводилась с зерновым горохом 'Торсдаг III' (*Pisum sativum* var. *vulgatum*), который районирован в Эстонской ССР с 1964 года. Среднее содержание сырого протеина в зерне по сорту 22—26% (Hindoalla, 1964). По общепринятой методике (Зоз, Макарова, 1964; Шифрин, Зоз, 1971) были получены мутантные линии гороха. Мутагенным фактором служила N-нитрозо-N-этилмочевина (НЭМ), одно из наиболее эффективных нитрозосодержащих алкилирующих соединений. Для анализа белка использованы зерна константных мутантных линий четвертого поколения, в первую очередь — линий с хозяйственно-ценными признаками (скороспелых, крупносемянных, компактоидов, штамбовых). Объектами исследований служили также некоторые хлорофильные мутанты. Анализы проводили по объемному методу определения аммонийного азота без отгонки аммиака по Кьельдалю (Цап, Леончик, 1968). Сущность метода заключается в прямом оксидиметрическом титровании ионов аммония, содержащихся в анализируемых вытяжках. Для анализа брались средние для каждой линии пробы, вес пробы — 0,2 г. Образцы сжигали смесью серной и хлорной кислот. В полученных вытяжках титровали ионы аммония стандартным раствором гипобромита с биамперометрической индикацией конечной точки. Титрование осуществляли с помощью азотомера типа АЗМ—УНИИЗ. Полученные данные пересчитывали на содержание сырого протеина при помощи коэффициента 5,7 (Петербургский, 1968).

Результаты анализов показали, что общее содержание сырого протеина у различных мутантных линий сильно варьировало. В табл. 1 приведены данные только о тех линиях, в зерне которых содержание белка

Таблица 1

Содержание сырого протеина в зерне у мутантов гороха (четвертое поколение)

Линия	Характеристика мутанта	Содержание сырого протеина, % к сухому веществу
5—52	штамбовый	27,75±0,27
2—229	”	27,17±0,27
10—42	крупносемянный	25,96±0,21
2—12	хлорофильный мутант темн. синевато-зел.	25,71±0,12
8—303	полуштамбовый	24,75±0,09
5—378	карликовый	23,70±0,14
5—315	ультраскороспелый	22,81±0,25
2—359	хлорофильный мутант, светлозеленый	22,11±0,39
Торсдаг III — исходный сорт		21,96±0,14

Выделены данные, существенно отличающиеся от данных исходного сорта (t — тест, $P < 0,01$).

оказалось выше, чем в контрольных. Нами выделены четыре линии, существенно превосходящие исходный сорт по этому признаку. У мутантной линии № 5-52, полученной воздействием 5мМ-вым раствором НЭМ и выделенной как штамбовая, содержание сырого протеина было на 5,8% выше, чем в контроле. У мутантной линии № 2-229 (НЭМ-2мМ) содержание протеина также было почти на том же уровне. Особый интерес представляет линия № 10-42, где крупносемянность сочеталась с высоким содержанием протеина. Известно, что обычно у гороха существует отрицательная корреляция между урожайностью и содержанием белка в зерне (Бурдун, 1969; Бенкен, 1966), хотя известны и противоположные данные (Соболев и др., 1971б; Неклюдов и др., 1970).

Качество белка определяется пищевой ценностью и наличием незаменимых аминокислот. Пищевая ценность определяется отношением $P = A : G$, где P — пищевая ценность белка, A — процентное содержание альбуминов, G — процентное содержание глобулинов. Исследования в области химического мутагенеза у зернобобовых культур показали (Соболев и др., 1971а; 1971б; Володин и др., 1971), что содержание отдельных белковых фракций изменяется не пропорционально. Суммарное повышение количества белка может быть достигнуто за счет мутаций отдельных генов, ответственных за синтез определенных белков. Повышение количества белка может происходить за счет повышения количества неполноценных его компонентов и поэтому неправомерно во всех случаях рассматривать мутант с повышенным общим содержанием белка в зерне как хозяйственно-ценный.

Нами определялись аминокислоты в зерне у мутантных линий, превосходящих исходный сорт по содержанию белка.

Аминокислотный состав зерна определяли по гидролизату на автоматическом анализаторе аминокислот типа ААА-81 (Чехословакия) при 53°C в цитратнатриевых буферах. Гидролиз муки проводили 6 н. HCl в течение 24 ч при 110° в глицериновом термостате, количество муки для гидролиза — 0,0300 г. Всего идентифицировали 17 отдельных аминокислот — все незаменимые (кроме триптофана) — и 10 заменимых — гистидин, аргинин, аспарагиновая кислота, серин, глутаминовая кислота, пролин, глицин, аланин, цистеин, тирозин.

Таблица 2

Содержание незаменимых аминокислот в семенах мутантных линий гороха, % от суммарного белка

Линия	Аминокислоты						
	метионин	валин	лизин	треонин	лейцин	изолейцин	фенил-аланин
5-52	0,21±0,04	4,46±0,14	7,95±0,04	3,98±0,05	8,41±0,12	4,30±0,29	4,23±0,14
2-229	0,21±0,04	4,22±0,05	7,82±0,10	4,02±0,09	8,10±0,38	4,21±0,22	4,51±0,26
10-42	0,14±0,03	4,40±0,02	7,00±0,44	4,23±0,07	8,18±0,13	4,34±0,04	4,50±0,24
2-12	0,21±0,03	4,51±0,12	7,91±0,26	4,10±0,04	8,35±0,03	4,47±0,01	4,76±0,07
8-303	0,18±0,03	4,50±0,07	7,85±0,62	4,14±0,22	8,08±0,44	4,20±0,31	4,40±0,17
5-315	0,17±0,08	4,62±0,01	8,72±0,38	3,98±0,04	9,68±1,22	4,45±0,03	5,71±0,30
5-378	—	4,61±0,08	8,69±0,21	4,06±0,07	8,54±0,26	4,27±0,23	4,67±0,43
2-359	0,18±0,02	4,78±0,27	9,81±0,26	3,95±0,16	8,25±0,70	4,36±0,20	4,38±0,37
'Торсдаг III' — исходный сорт	0,13±0,08	4,61±0,06	7,84±0,13	4,29±0,04	8,07±0,28	4,30±0,04	4,77±0,10

Таблица 3

Отношение незаменимых аминокислот к заменимым в зерне мутантных линий гороха

Линия	Общее содержание аминокислот, % к сухому весу		Отношение I : II
	незаменимых (I)	заменимых (II)	
5-52	9,31	18,34	0,51
2-229	8,99	17,76	0,51
10-42	8,59	17,08	0,50
2-12	8,91	16,57	0,53
8-303	8,25	16,18	0,51
5-315	8,85	14,65	0,60
5-378	7,95	14,63	0,54
2-359	7,90	14,12	0,56
'Торсдаг III' — исходный сорт	7,47	14,27	0,52

Из проведенных анализов следовало (табл. 2), что среди незаменимых аминокислот наиболее изменчивы метионин, лейцин и лизин. Количество лейцина и метионина у всех мутантных линий было выше контрольного. Между общим содержанием сырого протеина и относительным количеством лизина в нем отмечалась тенденция к отрицательной корреляции. Сравнивая абсолютные количества аминокислот (табл. 3), можно отметить, что у линий с повышенным содержанием белка отношение незаменимых аминокислот к заменимым находилось почти на том же уровне, как у контроля, или даже на более низком (№ 10-42). Только у трех проанализированных линий увеличение общего содержания белка в зерне происходило в значительной степени за счет более ценных его компонентов.

Таким образом, наши исследования показали, что содержание отдельных аминокислот в белке зерна у мутантных линий гороха изменяется не пропорционально и при повышении общего содержания белка не всегда сохраняется его качество.

ЛИТЕРАТУРА

- Бенкен И. И., 1966. Биохимическое изучение агроэкологических групп гороха. В сб.: Труды асп. и мл. науч. сотр. ВНИИ растениеводства (7) : 191—200.
- Бурдун А. М., 1969. Наследование количества белка в семенах гороха. Автореф. дисс. канд. биол. н. Краснодар.
- Быковец А. Г., Васякин Н. М., 1971. Использование химических мутагенов в селекции гороха и других зерно-бобовых культур. В сб.: Практика химического мутагенеза. М. : 106—111.
- Володин В. Н., Соболев Н. А., Масолова В. Н., 1971. Фракционный и аминокислотный состав белка двух мутантных линий гороха Раман. В сб.: Практика химического мутагенеза. М. : 74—80.
- Зоз Н. Н., Макарова С. Н., 1964. К методике применения химических мутагенов в селекции растений. Агрехимия (2) : 93—100.
- Макашева Р. Х., Осипова Е. Н., 1953. Горох. В кн.: Зерновые бобовые культуры. М.-Л. : 7—75.
- Неклюдов В. М., Антонова Г. А., Ушаков В. А., 1970. Изменчивость признака белковости у гороха. Селекция и семеноводство (1) : 33—36.
- Петербургский А. В., 1968. Практикум по агрономической химии. М.
- Сидорова К. К., 1971. Особенности мутационной изменчивости у гороха (*Pisum sativum* L.). В сб.: Практика химического мутагенеза. М. : 84—99.
- Соболев Н. А., 1968. Выделение мутантов у некоторых зерновых бобовых культур. В сб.: Мутационная селекция. М. : 77—83.
- Соболев Н. А., Володин В. Н., Масолова В. Н., 1971а. Изучение некоторых закономерностей изменчивости содержания белка в семенах гороха. В сб.: Практика химического мутагенеза. М. : 69—74.
- Соболев Н. А., Шведов Г. Г., Володин В. Н., Масолова В. Н., 1971б. Предварительные итоги сравнения урожайности продуктивных мутантов гороха, отличающихся повышенным содержанием белка. В сб.: Практика химического мутагенеза. М. : 80—84.
- Цап М. Л., Леончик О. А., 1968. Определение аммонийного азота в агрохимических объектах методом биамперометрического титрования без отгонки аммиака по Къельдалю. Агрехимия (11) : 114—127.
- Шифрин Ю. Ф., Зоз Н. Н., 1971. К вопросу о дозовой зависимости действия N-нитрозозтилмочевины на горох. В сб.: Теория химического мутагенеза. М. : 181—185.
- Hindoailla H., 1964. Herne sordid. Aktuaalset põllumajanduses. Tallinn : 72 : 79.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
13/XI 1972

JUTA SCHIFRIN

VALGU KVANTITATIIVSEST JA KVALITATIIVSEST SISALDUSEST
HERNE SORDI 'TORS DAG III' KEMOMUTANTIDES

Resümee

Eraldati neli konstantset mutandiliini, mille terade valgusisaldus oli lähtevormi omast oluliselt (5%) suurem. Selgus, et üksikute aminohapete hulk ei muutu proportsionaalselt kogu valgu hulga muutumisega. Mutantsete liinide terades leiduva valgu hulga ja lüsiini suhtelise koguse vahel täheldati tendentsi negatiivse korrelatsiooni suunas.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Ekspriimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud
13. XI 1972

JUTA SHIFRIN

**ON THE QUANTITATIVE AND QUALITATIVE CONTENT OF PROTEIN
IN THE CHEMICAL MUTANTS OF THE PEA VARIETY 'TORS DAG III'***Summary*

Four constant mutant lines were separated, which contained essentially more protein (5 per cent) in comparison with the initial form. The investigations showed that the content of separate amino acids did not change in proportion to the whole amount of protein. Between the amount of protein and the relative amount of lysin in the seeds of mutant lines, a tendency to negative correlation was observed.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology*

Received
Nov. 13, 1972