

Майми ТОХВЕР, Оскар ПРИЙЛИНН

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВ ЗЕРНА МУТАНТОВ ПШЕНИЦЫ

1. ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЕ СПЕКТРЫ ГЛИАДИНОВ МУТАНТОВ, ИНДУЦИРОВАННЫХ У ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ СОРТА 'НОРРЭНА'

Один из авторов при помощи химических мутагенов получил у яровой пшеницы сорта 'Норрэна' большое количество разнообразных морфологических мутантов, среди которых для дальнейшего исследования было выделено более шестидесяти мутантных линий (Прийлинн, 1971а, б). У этих мутантов наблюдались изменения таких важных для практики свойств, как устойчивость к заболеваниям (Прийлинн, Каск, 1971), содержание суммарного белка и аминокислотный состав (Прийлинн, Педак, 1972).

Большой интерес как с точки зрения теории, так и практики представляет сравнительное изучение качественного состава белка зерна мутантов. Индивидуальные компоненты белка являющиеся первичными продуктами генной функции и, таким образом, служат представителями наследственных моногенных признаков. Совокупность белков выступает в виде электрофоретического спектра, который по сравнению с другими биохимическими характеристиками является самым генотипичным показателем (Конарев, 1970).

Для получения электрофоретических спектров белков мутантов пшеницы был применен метод вертикального электрофореза в полиакриламидном геле, который нашел широкое применение при исследовании многих генетических проблем (Johnson, 1967; Jaaska, 1971), в том числе и мутагенеза (Морару, 1972; Хвостова и др., 1972).

В предварительных опытах этим методом нами были обнаружены изменения в белковом составе у мутантных линий пшеницы (Тохвер, Прийлинн, 1973). Настоящая статья является продолжением этой работы.

Материал и методика

Объектами исследования служили яровая пшеница сорта 'Норрэна' (var. *lutescens*) и 69 мутантных линий (урожай 1971 г. — М₆, М₇ и М₈), полученных у нее при использовании химических мутагенов N-нитрозо-N-этилмочевины (НЭМ) и N-нитрозо-N-метилмочевины (НММ) в разных концентрациях.

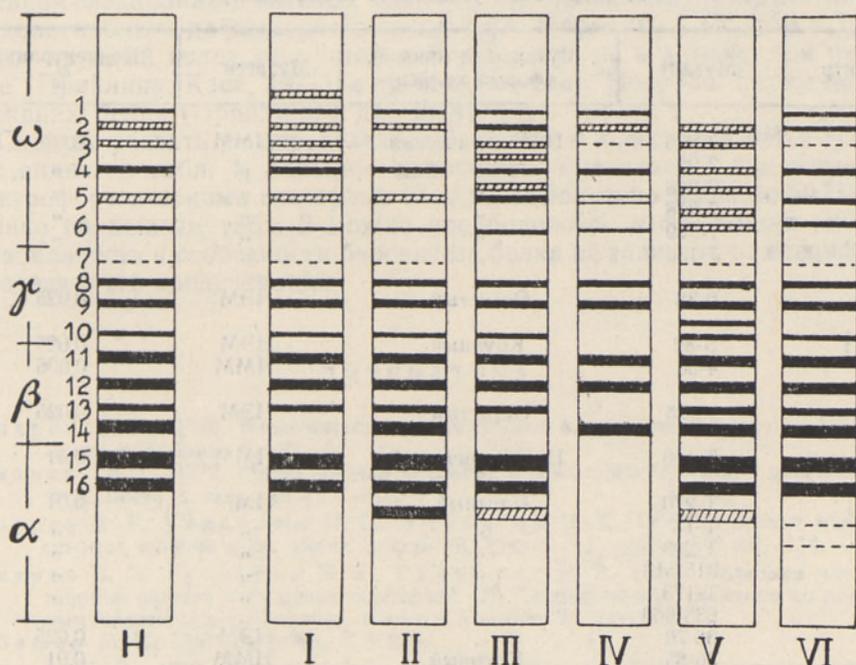
Глиадины выделяли по методике, выработанной в лаборатории белка и нуклеиновых кислот ВИР (Конарев, 1970), 70%-ным этанолом из свежеразмолотой муки после удаления альбуминов и глобулинов 1 н. раствором NaCl в 0,1 M фосфатном буфере (рН 7,0). Спиртовой экстракт глиадинов диализовали 36 ч против 0,1 н. уксусной кислоты при 4 °С. Глиадины делили на 7,5%-ном полиакриламиде с 35%-ной уксусной

кислотой и 5 М мочевиной. Белок наносили на гель в 6%-ном акриламиде в присутствии 2 М мочевины по 0,1 мл раствора, содержащего около 0,200 мг белка.

Электрофорез проводили в трис-ацетатном буфере (рН 3,4) в охлаждающей ванне в течение 5 ч 30 мин при силе тока 4 ма на трубку. По окончании электрофореза гели высвобождали из трубок при помощи медицинского шприца и фиксировали в 7%-ном ТХУ. После проявления электрофореграмм их фотографировали и сравнивали.

Результаты опытов и обсуждение

Электрофоретический спектр спирторастворимых белков (глиадинов) пшеницы сорта 'Норрэна' состоит из 16 компонентов (рисунок). Из них первые шесть медленнодвижущиеся, остальные быстродвижущиеся. Согласно разделению глиадинов на α -, β -, γ - и ω -фракции (Johnson и др., 1967) компоненты 1—6 представляют фракцию ω , 7—10 фракцию γ , 11—14 фракцию β и компоненты 15 и 16 фракцию α .



Электрофоретические спектры глиадина пшеницы сорта 'Норрэна' и его мутантов.

H — 'Норрэна'; I — 7-205, 7-92, 7-248, 7-218, 7-309, 7-133; II — 0-38; III — S-82, 4-56; IV — 0-428; V — T-180; VI — T-270, T-203, 315-513, 36-70, 36-65, T-178, 0-48, 638-660, 0-496, 83-13.

Выяснилось, что у 47 мутантов, отличающихся от исходного сорта разными морфологическими и физиологическими признаками (форма колоса, длина соломы, полегаетость, восприимчивость к болезням и т. д.), электрофоретический спектр глиадинов не изменился.

По действию мутантного гена, т. е. по его проявлению, чисто условно мутации разделяют на морфологические, физиологические и биохимические (Лобашев, 1967). Согласно этому разделению мутанты с измененными электрофоретическими спектрами можно назвать биохимическими, а мутанты с морфологическими изменениями — морфологическими (Тохвер, Прийлинн, 1973).

Таблица 1

Зависимость числа белковых мутаций от мутагена и его концентрации

Мутаген	Концентрация, %	Общее число морфологических мутаций	Из них с мутациями в спектре глиадинов
НММ	0,006	11	7 (63%)
НММ	0,01	28	8 (28%)
НЭМ	0,012	15	1 (6%)
НЭМ	0,025	15	6 (40%)

Таблица 2

Распределение мутантов по типам спектров

Спектр	Мутант	Мутантный признак (форма колоса)	Мутаген	Концентрация, %
I	7-205	Цилиндрический	НММ	0,006
	7-92	"	"	"
	7-248	"	"	"
	7-218	"	"	"
	7-309	"	"	"
	7-133	"	"	"
II	0-38	Остистый	НЭМ	0,025
III	S-82	Крупный	НЭМ	0,025
	4-56	"	НММ	0,006
IV	0-428	Остистый	НЭМ	0,025
V	T-180	Цилиндрический	НММ	0,01
VI	T-270	Плотный	НММ	0,01
	T-13	"	"	"
	T-203	"	"	"
	315-513	"	"	"
	T-178	"	"	"
	638-660	"	"	"
	36-70	"	НЭМ	0,025
	36-65	Крупный	НММ	0,01
	0-496	Остистый	НЭМ	0,025
	0-48	"	"	"
	83-15	Плотный	"	0,012

На основании электрофоретических спектров глиадинов остальные 22 мутанта являются биохимическими в отношении биосинтеза глиадина, поскольку у них наблюдаются определенные изменения в белковых спектрах. Измененные спектры подробнее рассмотрены на рисунке.

Шесть мутантов (7-205, 7-92, 7-248, 7-218, 7-309, 7-133) имели в белковом спектре больше линий в ω -части и меньше в β -части, чем 'Норрэна'.

Изменение в ω -, β - и α -частях белковых спектров наблюдается у S-82 и 4-56, причем они имеют в ω - и α -фракциях больше, а в β -фракции меньше линий, чем 'Норрэна'. У мутанта 0-38 обнаружена одна линия меньше в ω -части, а больше в α -части, у T-180 имеются измененные ω - и γ -, а у 0-428 γ -, α - и β -части.

Одну большую группу с одинаковыми белковыми спектрами образуют Т-270, Т-13, Т-203, 315-513, 36-70, Т-178, 638-660, 0-496, 36-65 и 0-48. У них изменена ω -часть по расположению линий.

При сравнении описанных спектров бросается в глаза, что наиболее изменчива ω -фракция глиадинов. Это значит, что наиболее мутабельными являются гены, соответствующие этим компонентам глиадинов.

Во всех измененных спектрах присутствуют вторая, четвертая, восьмая, девятая, одиннадцатая, двенадцатая и пятнадцатая белковые линии спектра 'Норрэна'. Они представляют белки, которые не изменились в ходе мутационного процесса.

Новые белковые линии появились у I, II, III и V групп мутантов (см. рисунок). Намного меньше белковых линий имеет мутант 0-428, своеобразные белковые спектры имеют мутанты S-82, 4-56 и Т-180, которые отличаются от спектра белка 'Норрэны' по числу линий и по положению и интенсивности их. В то же время эти мутанты представляют и хозяйственно-селекционный интерес, так как по своим морфологическим и физиологическим данным превосходят сорт 'Норрэна'. S-82, 4-56 и Т-180 имеют крупный колос, они устойчивы к полеганию и к стеблевой ржавчине (Прийлинн, Каск, 1971) и превышают сорт 'Норрэна' также по содержанию белка (Прийлинн и др., 1974).

Следует указать на определенное различие в действии НЭМ и НММ. Как видно из табл. 1, большее количество мутантов с измененными электрофоретическими спектрами глиадинов получено при помощи НММ. Однако по данным табл. 2 можно предположить, что в наших опытах мутабельность и особенности биосинтеза белка не зависели от специфики мутагена и его концентрации.

ЛИТЕРАТУРА

- Конарев В. Г., 1970. Биохимические предпосылки в селекции кукурузы на белок. Вестн. с.-х. науки 6 : 22—31.
- Конарев В. Г., 1972. Молекулярная биология и некоторые проблемы растениеводства. Вестн. с.-х. науки 2 : 7—13.
- Конарев В. Г., Гаврилюк И. П., Губарева Н. К., 1970. Белковые маркеры геномов пшениц и их диких сородичей. Вестн. с.-х. науки 8 : 100—114.
- Конарев В. Г., Губарева Н. К., Гаврилюк И. П., 1970. Белковые маркеры геномов пшениц и их диких сородичей. III. Специфичность глиадина по данным иммунохимического анализа. Вестн. с.-х. науки 9 : 91—103.
- Лобашев М. Е., 1967. Генетика. Л. : 289.
- Морару К. В., 1972. Биохимические и хозяйственные особенности мутантов мягкой озимой пшеницы. Автореф. докт. дисс. Л.
- Прийлинн О. Я., 1971а. Мутации у яровой пшеницы, вызванные действием N-нитрозотилмочевины и N-нитрозометилмочевины. В сб.: Химический мутагенез и селекция. М. : 217—222.
- Прийлинн О. Я., 1971б. Наследование изменений, выявленных в M₁ и M₂ у яровой пшеницы после воздействия N-нитрозоалкилмочевин. В сб.: Теория химического мутагенеза. М. : 136—139.
- Прийлинн О., Каск К., 1971. Устойчивость к ржавчине мутантных линий яровой пшеницы, индуцированных химическими мутагенами. Изв. АН ЭССР, Биол. 20 : 250—254.
- Прийлинн О. Я., Педак Э. Я., 1972. Аминокислотный состав мутантов яровой пшеницы, индуцированных химическими мутагенами. В сб.: Химический мутагенез и создание селекционного материала. М. : 214—219.
- Прийлинн О. Я., Тоомпуу О. Г., Вяльяотс А. Ю., 1974. Содержание белка у мутантных линий яровой пшеницы, индуцированных химическими мутагенами. В сб.: Успехи химического мутагенеза в селекции. М. : 203—207.
- Тохвер М., Прийлинн О., 1973. Изучение спирторастворимых фракций белков зерна мутантов яровой пшеницы методом электрофореза в полиакриламидном геле. Изв. АН ЭССР, Биол. 22 : 179—182.

- Хвостова В. В., Сафонов В. И., Солоненко Л. П., 1972. Сравнительное изучение белкового комплекса зерна хозяйственно-ценных мутантов яровой пшеницы. Второй съезд Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н. И. Вавилова. Выставка III. Вып. 2. М.: 219—220.
- Jaaska V., 1971. Phylogenetic differentiation of tetraploid wheats. ENSV TA Toimet., Biol. 20 : 202—214.
- Johnson B. L., Barnhart D., Hall O., 1967. Analysis of genome species relationships in the polyploid wheats by protein electrophoresis. Amer. J. Bot. 54 : 1089—1096.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
4/VII 1974

Maimu TOHVER, Oskar PRIILINN

NISUMUTANTIDE TERAVALKUDE ELEKTROFOREETILINE UURIMINE

I. Suvinisusordist 'Norröna' indutseeritud mutantide gliadiinide elektroforeetilised spektrid

Resüme

Uurit suvinisu 'Norröna' (var. *lutescens*) 69 mutandi gliadiinvalgu elektroforeetilisi spektreid poliakrüülamidgeelis. Spektrite võrdlemine näitas, et paljudel mutantidel on oma iseloomulik valguspekter, mis erineb lähtevormi spektrist. Saadud piltide järgi on kõige mutabiilsemad need valgud, mis elektroforeetiliselt on väheliikuvad (nn. ω-gliadiinid).

Muutused valguspektrites ei olnud seostatavad morfoloogiliste muutuste ega mutagenide ehituse ja doosiga.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud
4. VII 1974

Maimu TOHVER, Oskar PRIILINN

ELECTROPHORETICAL INVESTIGATION OF THE GRAIN PROTEINS OF THE WHEAT MUTANTS

I. Changes in the gliadin patterns of the summer wheat 'Norröna' mutants

Summary

69 mutants of the variety 'Norröna' (var. *lutescens*) were compared by the method of electrophoresis of the gliadins on polyacrylamide gel. Photographs of the gels showed that many of these mutants had a characteristic gliadin pattern. The patterns had a fast and slow series of bands. The slow bands (ω-gliadins) are more mutable than the fast ones.

The changes in these patterns were not connected with morphological changes, or with the construction of mutagens and their dose.

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

Received
July 4, 1974