

**ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ И ВЛАЖНОСТИ ПОЧВЫ
НА ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ РАЗМЕРОМ ФРАКЦИИ ЗЕРЕН ПШЕНИЦЫ
И СОДЕРЖАНИЕМ В ИХ ЗАПАСНОМ БЕЛКЕ ОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ**

Андрей БАБИЦКИЙ, Занфира ТОМА

Институт генетики и физиологии растений АН Молдовы

Metoda DBC (dye binding capacity) a fost folosită pentru a demonstra interacțiunea dintre conținutul aminoacizilor bazici din proteinele bobului de grâu durum de vară, dimensiunea bobului și condițiile de reproducție a acestuia la 13 regimuri de nutriție minerală și 3 niveluri de umiditate. S-a constatat că între nivelul de umiditate a solului și conținutul cantitativ al aminoacizilor bazici din proteine există o corelație pozitivă, care este mai evidențiată în fracția medie după dimensiunea grăunțelor. Factorul principal ce determină diminuarea conținutului aminoacizilor bazici în proteinele de rezervă ale bobului de grâu este deficitul considerabil de umiditate din sol în perioada de creștere și maturizare a grâului.

Dye binding capacity (DBC) method has been used to demonstrate the considerable dependence of the content of basic amino acids of the spring durum wheat kernel protein in relation to kernel size and the plant growing condition of varying mineral fertilizers and levels of soil humidity in steppe ecological zone growing. The experimental design consisted of 13 variables mineral nutrition under three levels of soil humidity: one rain-fed and two different rates of irrigated conditions. To increase precision, the design was randomized. From our study it follows that there is positive relationship between content of basic amino acids of wheat protein and the level of soil moisture regime during kernel reproduction which is more manifested for middle fraction of wheat kernel size. These data indicate that the soil water deficit was responsible for the lower content of basic amino acids in wheat protein.

С бурным развитием научно-технического прогресса и ростом народонаселения все более актуальной становится проблема перехода населения от питания животным белком к питанию растительным белком. Она имеет не только продовольственное, но и громадное социальное значение в качестве гарантии дальнейшего существования цивилизации на земле. Всевозрастающее производство животного белка создает громадный резервуар нематодной, бактериальной, микоплазменной, прионной, вирионной и вирусной инфекций. Первые предвестники этой катастрофы уже на горизонте. Это смертельные для людей инфекции птичьего гриппа в Азии и Европе, губчатого энцефалита крупного рогатого скота в Англии и Германии, смертельного вирусного заболевания нервной системы, передаваемого слюной свиней, в Малайзии. Эти случаи создают прецедент уничтожения в кратчайшие сроки миллионного поголовья животных, что само по себе является катастрофой. Массовое уничтожение птиц на птицефабриках, поголовья крупного рогатого скота на животноводческих комплексах – все это кошмарные по сути события. Так, в Малайзии миллионное поголовье живых свиней сваливали в огромные котлованы и расстреливали из пулеметов. Это уже сейчас страшная по жестокости картина, а в перспективе может возникнуть необходимость в еще более масштабных предохранительных мерах и в глобальном уничтожении всего поголовья животных. До тех пор, пока не ликвидированы животноводческие комплексы и мясокомбинаты, человек будет находиться на низком уровне развития человеческой цивилизации, определяемом не уровнем развития техники, но уровнем развития нравственности. Чем больше людей занято на животноводческих комплексах и мясокомбинатах, тем больше в обществе распространяются звериные и антигуманные инстинкты жестокости и садизма; в сознание людей насаждается право и жажда убийства живых существ, в том числе и людей, что сейчас особенно видно на примере Америки, население которой вышло на самый высокий в мире уровень как преступности, так и производства и потребления мяса и мясных продуктов. В Индии, например, уже в течение многих тысячелетий, со времени возникновения ведической культуры, людей, употребляющих в пищу мясо, считают умственно низкоразвитыми и нравственно низменными.

Еще одну опасность представляет технология кормления животных путем интенсивного применения гормональных стимуляторов роста и антибиотиков. Так, производство бройлерных кур и употребление в пищу их мяса привело к рыхлости соединительной ткани и костной системы и массовому ожирению населения Америки. Ожирение населения становится национальной проблемой Америки.

Ясно, что снабжение населения белком не должно основываться на животном белке. Решением этой проблемы может быть только увеличение производства растительного белка с питательной ценностью, равноценной животному белку. Поэтому перед учеными мира стоит первостепенная задача создания растений, запасной белок которых был бы сбалансирован как по аминокислотному составу, так и по питательной ценности, и был бы равноценен белку животных.

Наиболее приемлемый белок – это белок злаковых культур, в частности – пшеницы, поскольку бобовые культуры насыщены алкалоидами и эстрогенами. Однако белок пшеницы не сбалансирован по целому ряду аминокислот, в том числе и по лизину. Поэтому для селекционеров весьма актуальна задача выяснения взаимосвязи между содержанием белка и содержанием в нем лизина и факторов, влияющих на эту взаимосвязь, особенно в связи с разнокачественностью семян.

До настоящего времени все еще остается невыясненным и крайне запутанным вопрос о тех внутренних и внешних факторах формирования белка в зерне злаковых культур, которые определяют его обогащенность незаменимыми аминокислотами, в частности – основными аминокислотами. Уже созданы многочисленные каталоги мировой коллекции пшениц с указанием содержания в их зерне белка и лизина, исходя из того, что эти показатели полностью определяются их генотипом и не зависят от условий выращивания растений и способа подготовки образцов к биохимическим анализам. Эти анализы были проведены на образцах, выращенных при широком разнообразии климатических и агрономических условий и на неконтролируемой выборке полученных семян. Однако исходная точка, что все определяет генотип, а внешние условия выращивания можно не учитывать, крайне ошибочна и способна только вводить исследователей в заблуждение.

Прежде чем исследовать разные генотипы мировой коллекции пшениц, крайне необходимо разобратся вначале в этом вопросе на одном генотипе, получить сведения о том, насколько изменчив показатель содержания основных аминокислот в белке пшеницы и выявить существенные факторы, влияющие на него [2,8,10]. Успешная работа по отбору нужных генотипов неизбежно связана с необходимостью анализа больших массивов данных биохимических анализов различных образцов зерна пшеницы по аминокислотному анализу зерна на лизин. Однако для этих целей пропускная способность аминокислотных анализаторов недостаточна, необходимо использовать метод связывания красителя и анализировать большие массивы данных. Лучше всего для этих целей подходит графическое представление данных, при котором сразу виден весь массив данных и тенденция его изменения, что позволяет лучше понять ответную реакцию изучаемого генотипа на условия внешней среды. Насколько нам известно, таких сведений никто до сих пор не представил, поэтому восполнение этого пробела и является целью данной публикации.

Материалы и методы

Опыты по влиянию различных доз внесения минеральных удобрений и их сочетаний и режимов влажности почвы на содержание основных аминокислот в запасном белке пшеницы были проведены на яровой твердой пшенице Харьковская 46, выращенной в полевых условиях Одесской области. Норма высева – 5 млн. семян/га, глубина заделки – 4 см, ширина междурядьев – 15 см. Опыт состоял из 13 вариантов различных сочетаний минеральных удобрений, которые обозначались номерами от 1 до 13 в следующем порядке: **1** – без удобрения; **2** – N30P30K30; **3** – N60P60K60; **4** – N90P90K90; **5** – N0P60K60; **6** – N30P60K60; **7** – N90P60K60; **8** – N60P60K0; **9** – N60P60K30; **10** – N60P60K90; **11** – N60P0K60; **12** – N60P30K60; **13** – N60P90K60, вносились поздней осенью под зяблевую вспашку после парового предшественника. Растения выращивали при трех режимах влажности почвы: **1** – без полива (дефицит влаги); **2** – 80% от полной почвенной влагоемкости (ППВ), (оптимум почвенной влаги); **3** – 90% ППВ (избыток влаги). Итого было 39 вариантов сочетаний уровней минерального питания и режимов влажности почвы. Каждый вариант засеивался в 6-кратной повторности при рандомизированном размещении вариантов в пределах однородного уровня влажности почвы. Итого было засеяно 234 делянки по 18 квадратных метров каждая. Необходимый режим влажности почвы обеспечивался поливом водопроводной водой посредством передвижной дождевальной установки, навешенной на трактор ДТ – 54. Сбор урожая проводили комбайном Сидмайстер. Очищенное зерно, для учета урожая, взвешивали по вариантам. Зерно с каждого варианта фракционировали на зерновых решетках и обозначали серединой интервала между размерами ячеек проходного и задерживающего решет. Так, фракция 2,6 мм получалась при проходе зерна через ячейки решета 2,75 мм и задержке

на сите с шириной ячеек 2,5 мм. В полученных фракциях зерна каждого варианта белок определяли биуретовым методом [7,9], а содержание основных аминокислот – методом связывания красителя (Dye Binding Capacity: - DBC) [2,8,10].

Результаты и их обсуждение

При представлении полученных данных как взаимосвязи между содержанием основных аминокислот в белке пшеницы и фракционным размером зерен пшеницы, выращенной при 3-х режимах влажности почвы и 13-ти вариантах минеральных удобрений (рис.1), было выявлено, что наибольшее влияние на этот показатель оказывает уровень влажности почвы, затем минеральное удобрение и размер семян. Так, в условиях водного дефицита, при выращивании растений без полива, в зерне пшеницы формируется самый низкокачественный белок, и какая-либо закономерность зависимости от размера семян не просматривается. На этом фоне влажности почвы внесение повышенных доз как азотного, так и фосфорного удобрения ведёт к формированию более сбалансированного по основным аминокислотам белку.

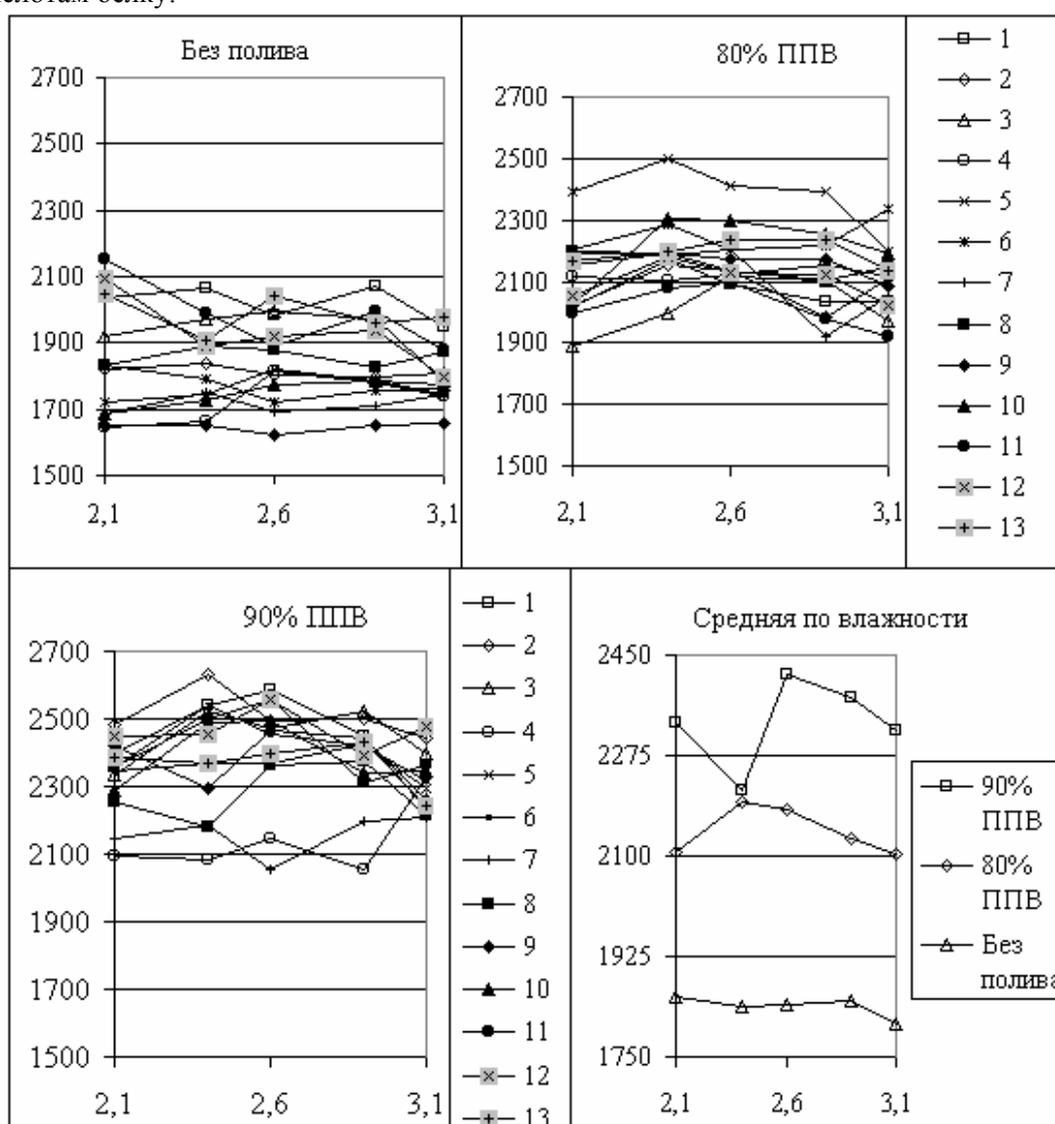


Рис.1. Влияние минерального питания и режимов влажности почвы на содержание основных аминокислот в белке (DBC) различных по крупности фракций зерна твердой пшеницы. Уровни влажности почвы указаны вверху в каждой из трех колонок. Сбоку указаны варианты уровней и сочетаний минерального питания. В четвертой колонке приведены графики зависимости DBC от размера фракции зерен при трех режимах влажности почвы, усредненные по всему набору уровней минерального питания. По оси абсцисс – размер фракции зерна, в мм; по оси ординат (DBC) – микромоли связанного красителя на грамм белка.

При увеличении влажности почвы до 80% ППВ качество белка повышается и в наибольшей степени – на фоне дефицита азота и повышенного содержания калия. Повышенные дозы азота действуют в направлении, противоположном влиянию влажности почвы, и по содержанию основных аминокислот качество белка снижается. Аналогично действуют высокие дозы азота и на содержание белка при повышенном уровне влажности почвы [7], и на этом уровне влажности уже возможно обнаружить зависимость содержания основных аминокислот от размера зерен. Мелкие и крупные зерна содержат белок худшего качества, чем средние по размеру зерна. При этом более высоком уровне влажности почвы просматривается и зависимость этого показателя от размера зерен. Средние по размеру зерна также содержат более качественный белок. Однако высокие дозы азота и фосфора нивелируют влияние влажности почвы, и при таких уровнях минерального питания в зерне пшеницы формируется белка больше, но он низкого качества. Усредненные графики по всем 13 вариантам минеральных удобрений показывают зависимость от размера зерен, наиболее четко просматриваемую при 80% ППВ влажности почвы.

Таким образом, из экспериментальных данных, отраженных на графиках, можно видеть, что содержание основных аминокислот в белке зерна пшеницы зависит как от размера зерен, наиболее выраженного при повышенном уровне влажности почвы, так и минерального удобрения, высокие дозы которого по фосфору и азоту действуют в противоположном влажности направлении и приводят к накоплению в зерне менее качественного белка, чем при других вариантах минерального удобрения.

Чтобы выяснить степень влияния влажности почвы на каждую фракцию по размеру зерен пшеницы, полученный массив данных был представлен как функция влажности для каждой фракции (рис.2), из чего явствует, что между уровнем влажности почвы и содержанием основных аминокислот в белке эндосперма зерен пшеницы разного размера имеется положительная взаимосвязь, которая лишь в некоторых случаях отклоняется от линейной. Эти отклонения наиболее заметны в вариантах 4 и 7 минерального питания – при максимальной дозе азота 90 кг/га, и в варианте 5, когда азот вообще не вносился.

Если увеличение влажности почвы ведет к увеличению содержания основных аминокислот в белке, то на фоне высокого содержания азота влияние влажности элиминируется. Наиболее сильно влажность почвы повышает содержание основных аминокислот в белке в варианте 5, где на фоне среднего содержания калия и фосфора отсутствовало азотное удобрение. Из последней колонки графика, представляющего усредненный ответ изучаемого показателя на влажность, видно, что наиболее крутая ответная реакция наблюдается у средних по размеру фракций 2,4 и 2,6 мм, в то время как фракции зерен минимального и максимального размеров реагируют значительно слабее.

Обнаруженное нами возрастание содержания основных аминокислот в запасном белке пшеницы при увеличении влажности почвы, сопровождаемое падением содержания белка в зерне [7], свидетельствует об ингибировании, в данных условиях формирования зерна, синтеза одной из основных фракций белка эндосперма, а именно – глиадина. Это вызывает вопрос о связи синтеза глиадина с водным режимом в момент роста и развития пшеницы: обусловлено ли это активацией новых генных комплексов или активацией кислой протеазы в момент налива зерна? Ответы на эти вопросы смогут прояснить механизм действия влажности почвы на качество белка пшеницы.

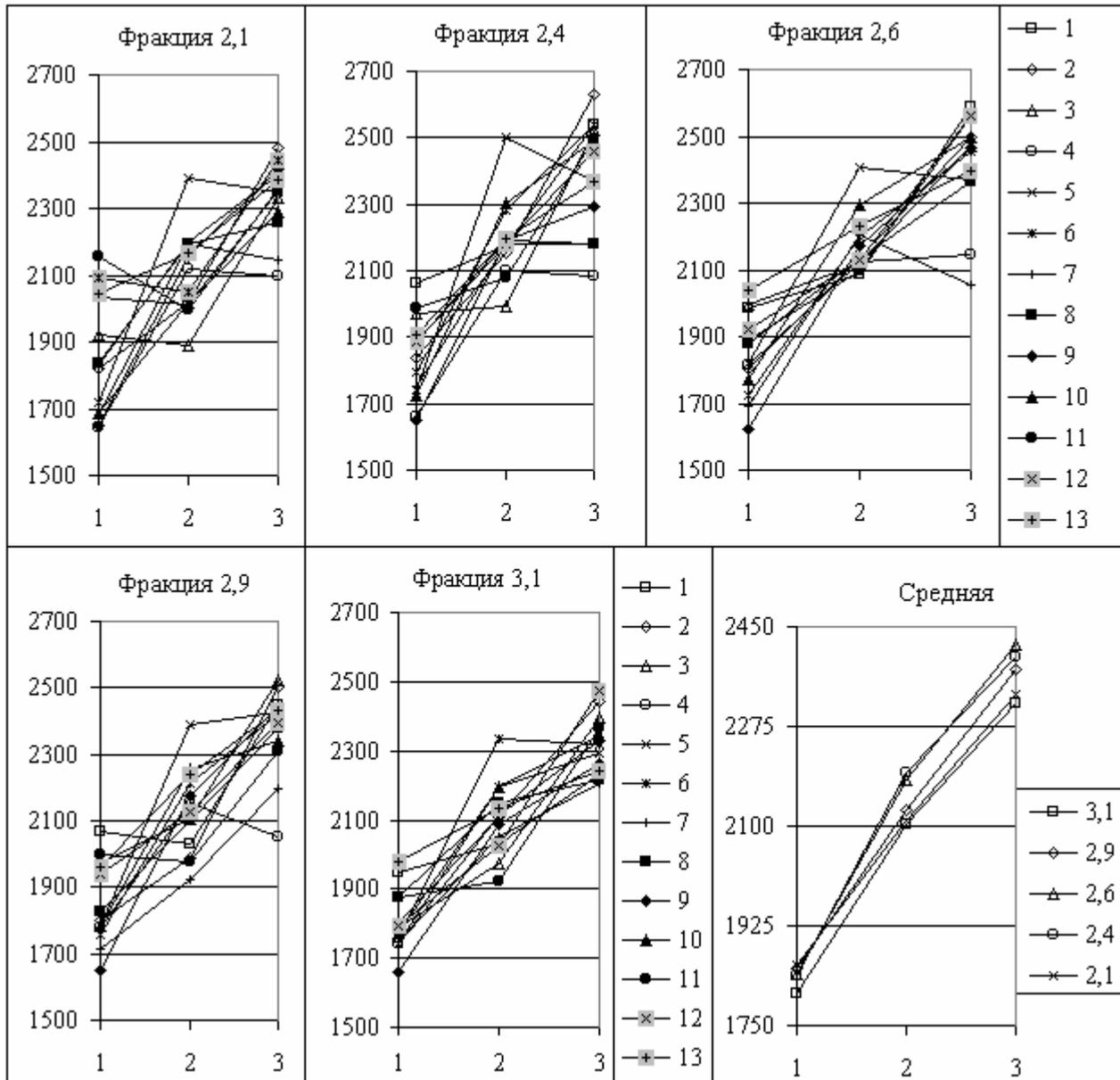


Рис.2. Влияние уровня влажности почвы на содержание основных аминокислот в белке зерен пшеницы, различающихся по размеру. По оси абсцисс – уровень влажности почвы; по оси ординат – микромоли связанного красителя на 1 грамм белка. В верхней части каждой колонки указан размер фракции зерна, в мм. Сбоку приведены варианты минерального питания. В последней колонке приведен график с усредненными по 13 вариантам удобрений данными.

Учитывая недавно открытый механизм формирования семян с высокими урожайными качествами в условиях высокой влажности почвы, передаваемый следующему поколению в виде онтогенетической наследственности [1, 3, 4, 5, 6] и неизбежно связанный с активацией генных комплексов, можно считать, что уровень влажности почвы способен активировать гены в процессе онтогенеза и влиять на наследственный аппарат семян пшеницы.

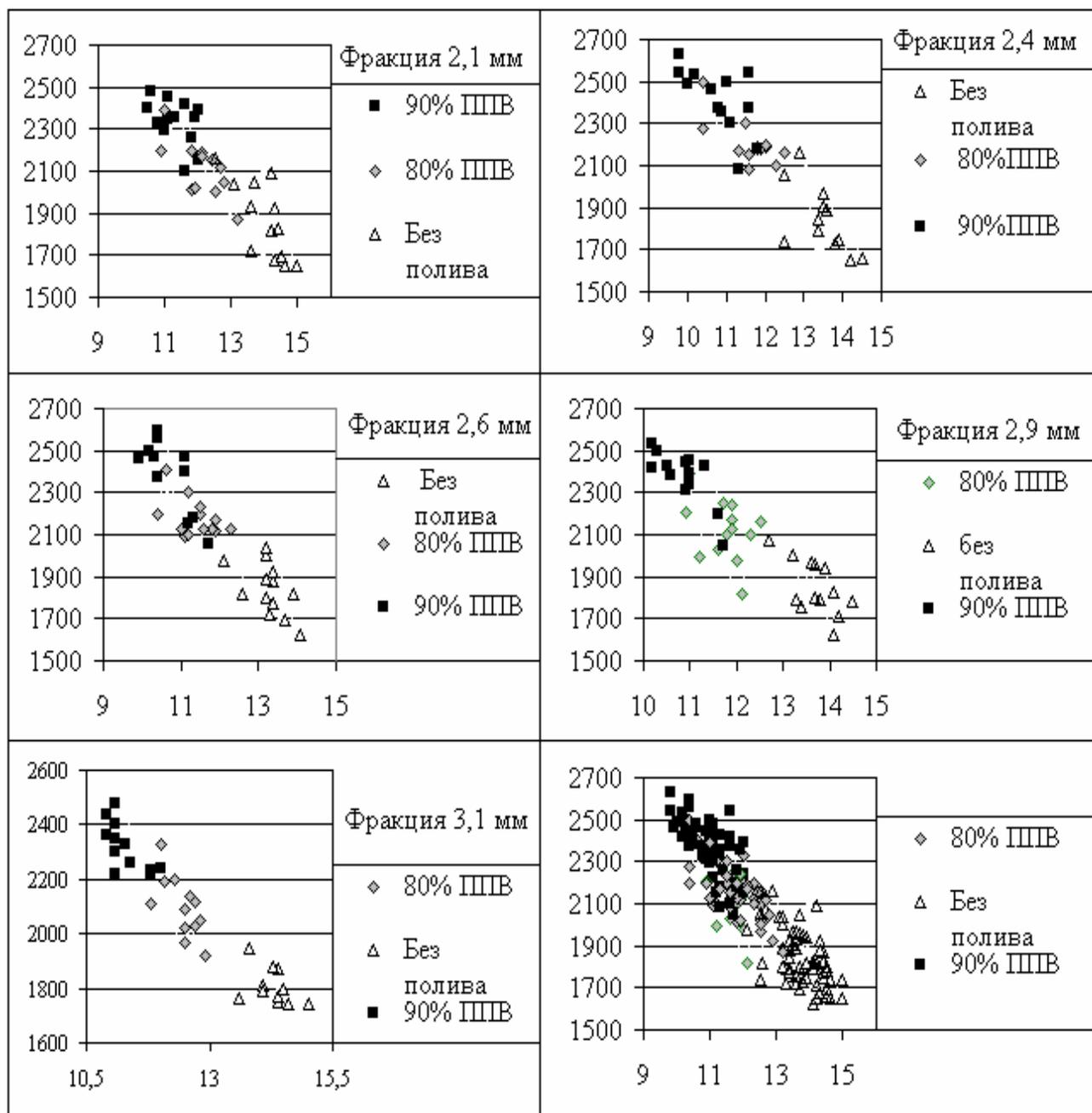


Рис.3. Взаимосвязь между содержанием белка в зерне пшеницы различных фракции и его обогащенностью основными аминокислотами под влиянием уровней минерального питания и режимов влажности почвы. По оси абсцисс – содержание белка, в %; по оси ординат – способность связывать краситель [DBC – dye binding capacity], в микромолях связанного красителя на грамм белка.

Из рисунка четко видно, что различные по размеру фракции зерна отличаются по содержанию белка и его обогащенности основными аминокислотами, судя по данным DBC, включая и лизин. Однако для каждой фракции зерна эта зависимость имеет разный наклон прямой и различную степень рассеяния образцов вокруг линии регрессии. Чем более крутая зависимость, тем точнее можно обнаружить изменения в содержании основных аминокислот в белке. Степень рассеяния данных от линии регрессии характеризует погрешность метода. Для оценки этих параметров рассчитаны линии регрессии для каждой фракции. Рассчитанные коэффициенты линий регрессии и достоверности аппроксимации приведены в таблице.

Размер фракции, мм	Уравнение регрессии	Достоверность аппроксимации, R ²
2,1	$y = -163x + 4132$	0,77
2,4	$y = -192x + 4458$	0,84
2,6	$y = -176x + 4241$	0,80
2,9	$Y = -169x + 4216$	0,90

Линии регрессии имеют различный наклон, а точки имеют различную степень рассеяния вокруг линии регрессии. Наиболее тесное приближение к линии регрессии – у образцов крупных семян (2,9 мм), не особо подверженных влиянию условий выращивания растений и более четко отражающих генотип сорта. Зерна средней фракции (2,6 мм) более реагируют на удобрения, и точки на графике имеют больший разброс. Из этих графиков четко видно, что режим влажности почвы оказывает более сильное влияние на содержание белка и на его обогащенность лизином, нежели минеральное питание. Зерна растений, выращенных в условиях дефицита влаги, характеризуются наибольшим содержанием белка и наименьшей обогащенностью белка лизином. На всех графиках видна четкая отрицательная корреляция между содержанием белка и его обогащенностью лизином.

Полученные данные показывают, что при селекции на белковитость зерна и его обогащенность лизином следует тщательно готовить образцы для биохимического анализа и проводить его не на цельном зерне, а на расфракционированном на зерновых решетках. Особенно тщательно при репродукции зерна следует контролировать уровень влажности почвы – главный фактор, влияющий на содержание и качество белка. Анализы образцов зерен, гетерогенных по размерам, отраженные на графике в виде объединенных по всем фракциям усредненных величин (последняя колонка рисунка 3), указывают на значительно больший разброс данных относительно линии регрессии, что вносит значительные погрешности при отборе генотипов пшеницы, различающихся по высокому содержанию основных аминокислот в белке эндосперма зерна пшеницы. Из представленных нами данных видно, насколько важным для формирования хозяйственно полезных признаков является уровень влажности почвы. Это позволяет считать, что окультуренные виды растений – омезофиты.

Выводы

1. Представлены массивы данных о взаимосвязи минерального питания, влажности почвы и размеров зерен на содержание основных аминокислот в белке зерна твердой яровой пшеницы.
2. Содержание основных аминокислот в белке зерна пшеницы зависит от размера фракции зерна. Средняя, преобладающая фракция зерна, характеризуется самым высоким значением этого показателя. Более крупная и более мелкая фракции содержат меньше основных аминокислот в белке.
3. Между содержанием основных аминокислот в белке зерна пшеницы и влажностью почвы имеется положительная коррелятивная зависимость при возделывании пшеницы в условиях степной зоны.
4. Увеличение влажности почвы ведет к снижению содержания в зерне белка и к повышению в нём содержания основных аминокислот. Однако эта зависимость нивелируется и переходит в противоположную при высоких дозах азотного и фосфорного минерального питания.

Литература:

1. Бабицкий А., Брединский А. Урожайные качества семян пшеницы степной зоны // *Analele Științifice ale Universității de Stat din Moldova. Seria "Științe chimico-biologice"*. - Chișinău, 2005, p.418-421.
2. Бабицкий А.Ф., Тома З. Г. Факторы, влияющие на содержание суммы основных аминокислот в белке зерна пшеницы // *Материалы Международной научно-практической конференции 13-15 июля, г. Жодино: Проблемы дефицита растительного белка и пути его преодоления*. - Минск: Белорусская наука, 2006, с.295-300.
3. Бабицкий А.Ф. Вторая зеленая революция в повышении продуктивности растений // *Материалы Международной научно-практической конференции 13-15 июля, г. Жодино: Проблемы дефицита растительного белка и пути его преодоления*. - Минск: Белорусская наука, 2006, с.48-53.
4. Бабицкий А., Брединский А. Экология семян пшеницы степной зоны // *Analele Științifice ale Universității de Stat din Moldova. Seria "Științe chimico-biologice"*. - Chișinău, 2006, p.324-330.
5. Бабицкий А.Ф., Брединский А.А. Повышение урожайных качеств семян пшеницы // *Аграрная наука*. - Москва. - 2006. - № 9. - С.5-7.

6. Бабицкий А.Ф., Брединский А.А. Урожайные качества семян пшеницы модифицирует влажность почвы // Acta et commentationes. Univ.de Stat din Tiraspol, vol.2: Științe biologice, geografice, geologice, chimice și didactică geografiei, biologiei și chimiei. - Chișinău, 2006, p.271-276.
7. Бабицкий А., Тома З. Влияние минерального питания и влажности почвы на взаимосвязь между урожаем зерна пшеницы и содержанием в нем белка //Analele Științifice ale Universității de Stat din Moldova. Seria "Științe chimico-biologice". - Chișinău, 2007, p.176-180.
8. Гаркавый П.Ф., Тома З. Г., Кюйтс Х. Д., Оя И. Косвенный метод определения лизина в зерне при помощи связывания красителя ацилан оранж Ж // Научно-техн. Бюллетень Всесоюзного селекционно-генетического института. Вып. 24. - Одесса, 1975, с.30-35.
9. Сечняк Л.К., Бабицкий А.Ф., Гармашова К. Н., Брединский А.А. Биохимические аспекты изучения урожайных качеств семян яровой пшеницы под влиянием условий минерального питания материнских растений // Пути создания исходного материала для селекции зерновых злаковых культур: Труды Всес. селекц.-генет. института. - Одесса, 1976, т.14, с.12-21.
10. Тома З.Г., Бабицкий А.Ф. Метод массового отбора высоколизиновых зерновых культур при помощи красителя тропеолин 000-2 // Создание идентифицированных генофондов сельскохозяйственных растений. - Кишинев, 1979, с.99-100.

Prezentat la 18.05.2007