

УДК 581.42

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ АЗОТА ПРИ ПОТЕРЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ СЕМЕНАМИ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ *Abies sibirica* Ledeb.

С. Г. Прокушкин, В. В. Панова

Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН – Обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН
660036, Красноярск, Академгородок 50/28

E-mail: stanislav@ksc.krasn.ru, zzzzeeee@ya.ru

Поступила в редакцию 05.03.2015 г.

Одной из причин потери всхожести семенами пихты сибирской в процессе хранения является изменение фракционного состава азотистых соединений и особенно белковых фракций. В связи с этим рассмотрены изменения этих соединений в нежизнеспособных семенах пихты в зависимости от эколого-фитоценологических условий, степени роста и развития деревьев (I и IV классов Крафта), а также морфоструктуры кроны. Показано, что содержание общего и белкового азота в нежизнеспособных семенах деревьев пихты I и IV классов роста зависит от фитоценологических условий и положения семян в кроне и изменяется в широком диапазоне. При этом максимальное содержание общего и белкового азота отмечено в семенах с верхней части генеративной сферы деревьев пихты, тогда как в семенах со средней и нижней частей кроны оно значительно ниже. Среди отдельных фракций белков в семенах с верхней части кроны деревьев I и IV классов роста преобладает труднорастворимая. Однако в пределах генеративной сферы деревьев труднорастворимая фракция так же, как и проламины, изменялась неравномерно. Различия в содержании глютелинов в семенах из различных частей генеративной сферы незначительны. Отмечено равномерное снижение количества альбуминов и глобулинов от верхней к нижней части кроны. При сравнении содержания отдельных форм азота в жизне- и нежизнеспособных семенах установлено существенное снижение общего и белкового азота, особенно у деревьев IV класса роста. У потерявших всхожесть семян во всей генеративной части кроны наблюдаются увеличение труднорастворимой фракции белка и резкое снижение альбуминов и глобулинов. Количество же глютелинов и проламинов в них изменяется незначительно. Выявленные изменения в количественном соотношении отдельных фракций белков наряду с другими физиолого-биохимическими процессами являются одной из причин потери семенами пихты сибирской жизнеспособности при хранении.

Ключевые слова: пихта сибирская, семена, потеря жизнеспособности, общий азот, белковые фракции.

DOI: 10.15372/SJFS20170104

ВВЕДЕНИЕ

Жизнеспособность семян может быть связана с различными факторами. Так, Т. П. Некрасова, А. П. Рябинков (1978) и И. Н. Третьякова, Е. В. Бажина (1995) выявили, что среди нежизнеспособных семян пихты значительное количество (до 35,4 %) пустых. Самое большое количество пустых семян обнаружено на высоте 800–830 м над ур. м., при этом по мере снижения высоты местности число их сокращалось. Образованию пустых семян (партеноспермии) у хвойных деревьев способствуют низкая тем-

пература воздуха во время созревания пыльцы, смыв пыльцы дождями в период пыления, а также низкое ее качество вследствие техногенного загрязнения окружающей среды (Третьякова, 1994).

По мнению других исследователей, одной из причин большого количества пустых семян в урожаях является повреждение их энтомо-вредителями (Некрасова, Рябинков, 1978; Белова, 2007). Отмечена также тесная связь между сохранением семенами жизнеспособности и повреждением хромосом. Продолжительность сохранения семенами их жизнеспособности мо-

жет зависеть и от наследственных свойств вида (Николаева, 2001).

Потеря семенами жизнеспособности происходит и при их хранении после сбора (эндогенный фактор). Так, отмечали потерю жизнеспособности даже у полнотельных семян через год после их сбора из-за хранения при низкой положительной температуре (Ермоленко, 2014). Многие исследователи связывают это с физиологическими изменениями, протекающими внутри семян (Данович и др., 1982; Bewley, 1982; Мамонов и др., 1986; Roberts, 1988; Николаева, 2001). Считается, что при хранении семян потеря ими жизнеспособности происходит в результате расхода запасных питательных веществ на дыхание, дегенерации энзимов, накопления ядовитых продуктов жизнедеятельности: продуктов брожения, ингибиторов роста, фенолов, фитогормонов и мутагенов (Николаева и др., 1999; Третьякова и др., 2003). Все эти вещества, накапливаясь в зародыше, блокируют многие биохимические реакции при прорастании и взаимосвязь эндосперма с зародышем. Причиной гибели семян может быть процесс денатурации молекул нуклеиновых кислот и белков, приводящий к инактивации ферментного аппарата, к снижению трансформации белка и изменениям его фракционного состава (Николаева и др., 1999).

Ранее нами была выявлена зависимость полевых качеств семян пихты сибирской от эколого-фитоценологических условий, класса роста дерева (с I по IV классы Крафта) и морфоструктуры кроны (Прокушкин и др., 2014). На основании этих исследований появилась возможность выявить изменения отдельных фракций азота в этой же партии семян после их хранения.

Цель исследования – оценка состава и содержания отдельных фракций азота при поте-

ре всхожести семенами пихты сибирской, собранными с деревьев разных классов роста и при разной локализации в кроне, в результате хранения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали семена пихты сибирской, собранные в пихтовом фитоценозе Козульского лесничества, расположенном в южной тайге Красноярского края (56° с. ш., 92° в. д.) (Атлас..., 1994; Лесной план..., 2008). Лесотаксационная характеристика этого насаждения и модельных деревьев приведена в таблице. Экологические условия района: срок вегетации 145 дней, количество осадков 522 мм в год, средняя температура июля 19 °С (Прокушкин и др., 2014).

Сбор семян проводили в конце августа 2010 г. с трех деревьев I и IV классов роста. Во всех случаях выбирали здоровые по жизненному состоянию деревья (Алексеев, 1989). Сбор семян проводили с учетом структуры кроны.

Структура кроны пихты сформирована тремя видами побегов: женскими, расположенными в верхней ее части, протяженностью 0.5–2.1 м, мужскими, расположенными в средней части кроны, и вегетативными. Для выявления влияния эколого-фитоценологических условий на фракционный состав азотистых соединений в семенах женский ярус условно разделили еще на три части, которые в дальнейшем принимали за верхнюю, среднюю и нижнюю генеративного яруса кроны (Третьякова, 1994; Белова, 2007). Семена по их положению в генеративной сфере (верх, середина, низ женского яруса) с разных деревьев одного класса роста объединяли в один образец. Исключением были семена с деревьев IV класса роста, где морфологическое состояние женского яруса не позволило получить для ана-

Таксационная характеристика объектов исследований

Тип леса	Площадь выдела, га	Характеристика древостоя							Характеристика модельных деревьев		
		Состав	Возраст, лет	H, м	D, см	Бонитет	Полнота	Запас на 1 га, дес. м ³	Класс дерева по Крафту	H, м	D, см
ЗМПКР*	8.7	6П1СЗБ	110	22	28	III	0.7	24	I	26	28
									II	26	26
									III	22	26
									IV	20	22
									V	18	20

Примечание. * ЗМПКР – зеленомошно-папоротниково-крупнотравный.

лизов достаточное количество семян. Поэтому при сборе семена со средней и нижней частей кроны объединили.

В опытах использовали только полнозернистые семена. Полнозернистость определяли путем замачивания семян на 2 ч. Как показали опыты, среднее количество полнозернистых семян, поврежденных энтомофитами, с верхней части генеративного яруса кроны составило 6 %. Полнозернистые семена, сохранившие посевные качества, относили к жизнеспособным, а хранившиеся в холодильнике при 4 °С и потерявшие через год после сбора всхожесть, – к нежизнеспособным.

Семена пихты сибирской использовали для анализа содержания общего и белкового азота и отдельных его фракций. По 15 г измельченных жизнеспособных и нежизнеспособных семян промывали ацетоном, охлажденным до –10 °С, до полного удаления смолистых веществ, высушивали до абсолютно сухой массы при температуре 105 °С и просеивали через сито. Полученные образцы хранили в бюксах в холодильнике при температуре 7–8 °С (Прокушкин и др., 2014).

Определение общего и белкового азота проводили по методике А. И. Ермакова и др. (1972), фракционный состав белкового азота анализировали по методу Х. Н. Починок (1976). В навеске (1 г) образца определяли водорастворимую (альбумины), солерастворимую (глобулины), спирторастворимую (проламины), щелочерастворимую (глутелины) фракции. Остаток веществ после выделения фракций относили к труднорастворимой (нерастворимой) фракции белков (Прокушкин и др., 2014).

Каждую фракцию белкового азота осаждали по Барнштейну, сжигали серной кислотой по методу Кьельдаля и фракционный состав белкового азота определяли по методу Х. Н. Починок (1976) в сочетании с последующим их фотоколориметрированием (Ермаков и др., 1972). На основании данных по содержанию азота рассчитывали количество белка в образцах (Ермаков и др., 1972; Гродзинский А., Гродзинский Д., 1973; Починок, 1976). Содержание отдельных фракций азотистых соединений в нежизнеспособных семенах сравнивали с содержанием и составом этих фракций в жизнеспособных, что позволило судить об изменении состава и соотношении фракций в семенах пихты, потерявших всхожесть.

Все анализы проводили в двух биологических и четырех химических повторностях. Полученные данные обрабатывали с использова-

нием программы MS Excel. Достоверность различий между отдельными вариантами оценивали по критерию Стьюдента с уровнем значимости $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что содержание общего и белкового азота в нежизнеспособных семенах пихты зависит от фитоценологических условий и изменяется от 5.0 до 10.1 для общего и от 4.5 до 9.0 мг/г а. с. м. – для белкового азота (рис. 1).

При этом в обоих случаях максимальное содержание общего и белкового азота отмечено в семенах с верхней части генеративной сферы деревьев I и IV классов роста. В средних и нижних частях кроны деревьев I и IV классов роста содержание общего и белкового азота в семенах значительно ниже.

Содержание отдельных фракций азота в семенах из разных частей генеративной сферы деревьев I и IV классов роста представлено на рис. 2.

Выявлено, что в семенах с верхней части кроны деревьев I и IV классов роста, утративших способность к прорастанию, преобладает труднорастворимая фракция, составляющая в среднем 39 и 34 % от общего содержания белкового азота соответственно. В пределах всей генеративной сферы деревьев содержание труднорастворимой фракции и проламинов снижается от верхней к нижней части кроны, а в их пределах изменяется неравномерно. Содержание глутелинов в семенах с различных частей

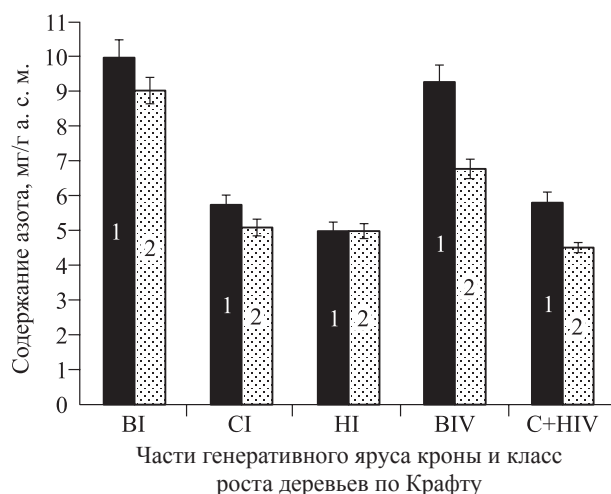


Рис. 1. Содержание общего (1) и белкового (2) азота в нежизнеспособных семенах пихты с верхней (В), средней (С) и нижней (Н) частями генеративного яруса кроны деревьев I и IV классов роста.



Рис. 2. Содержание отдельных фракций белкового азота в нежизнеспособных семенах пихты с верхней (В), средней (С) и нижней (Н) частях генеративного яруса кроны деревьев I и IV классов роста: 1 – водорастворимой, 2 – солерастворимой, 3 – спирторастворимой, 4 – щелочерастворимой, 5 – труднорастворимой.

генеративной сферы различалось незначительно. Отмечено также равномерное снижение количества альбуминов и глобулинов от верхней к нижней части кроны. При этом в нижней части генеративной сферы в семенах деревьев I класса роста содержание этих форм белкового азота было минимальным.

В нежизнеспособных семенах угнетенных деревьев (IV класса роста) содержание всех форм белкового азота в генеративной сфере кроны уменьшается (см. рис. 2).

Сравнение содержания общего и белкового азота в жизнеспособных и нежизнеспособных семенах показало, что в верхней части генеративной сферы кроны деревьев как I, так и IV класса роста различия в их содержании были недостоверны (рис. 3).

В то же время наблюдались значительные различия в содержании общего и белкового азота в семенах из средней и нижней частей генеративного яруса кроны деревьев рассматриваемых классов роста (см. рис. 3, С + Н). Так, в семенах деревьев I класса роста содержание общего азота составляло 69.45, а белкового – 76.07 % от их содержания в жизнеспособных семенах, а в семенах деревьев IV класса роста – 73.76 и 82.50 % соответственно. Снижение общего и белкового азота в семенах из этих частей генеративного яруса, вероятно, связано с резким уменьшением растворимых форм белкового азота за счет их распада до аминокислот и аммиачного азота, который может выделяться в результате эмиссии аммиака в окружающую среду.

Сравнение содержания отдельных фракций белкового азота в жизнеспособных и нежизнеспособных семенах из средней и нижней частей генеративной сферы кроны деревьев I класса роста выявило максимальные различия в содержании труднорастворимой фракции (рис. 4, А).

Содержание альбуминов в нежизнеспособных семенах во всех частях кроны деревьев I класса роста в среднем снижалось на 25 %. Изменение количества глобулинов наблюдалось только в семенах из средней и нижней частей кроны, достигая в последней 30 %, а различия в содержании проламинов и глютелинов были недостоверны.

Содержание всех фракций белкового азота в нежизнеспособных семенах с верхней части деревьев IV класса роста снижается по сравнению с жизнеспособными семенами. Для отдельных фракций белков снижение составляет от 4.3 до 25.4 %, причем различия, выходящие за пределы ошибки среднего, отмечались только для щелоче-

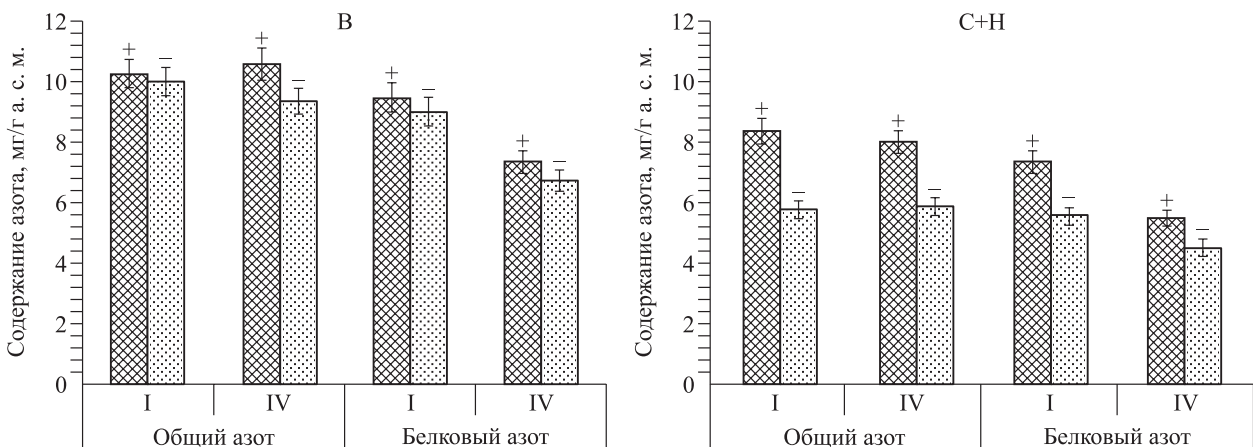


Рис. 3. Содержание общего и белкового азота в жизнеспособных (+) и нежизнеспособных (-) семенах из различных частей генеративного яруса кроны деревьев I и IV классов роста.

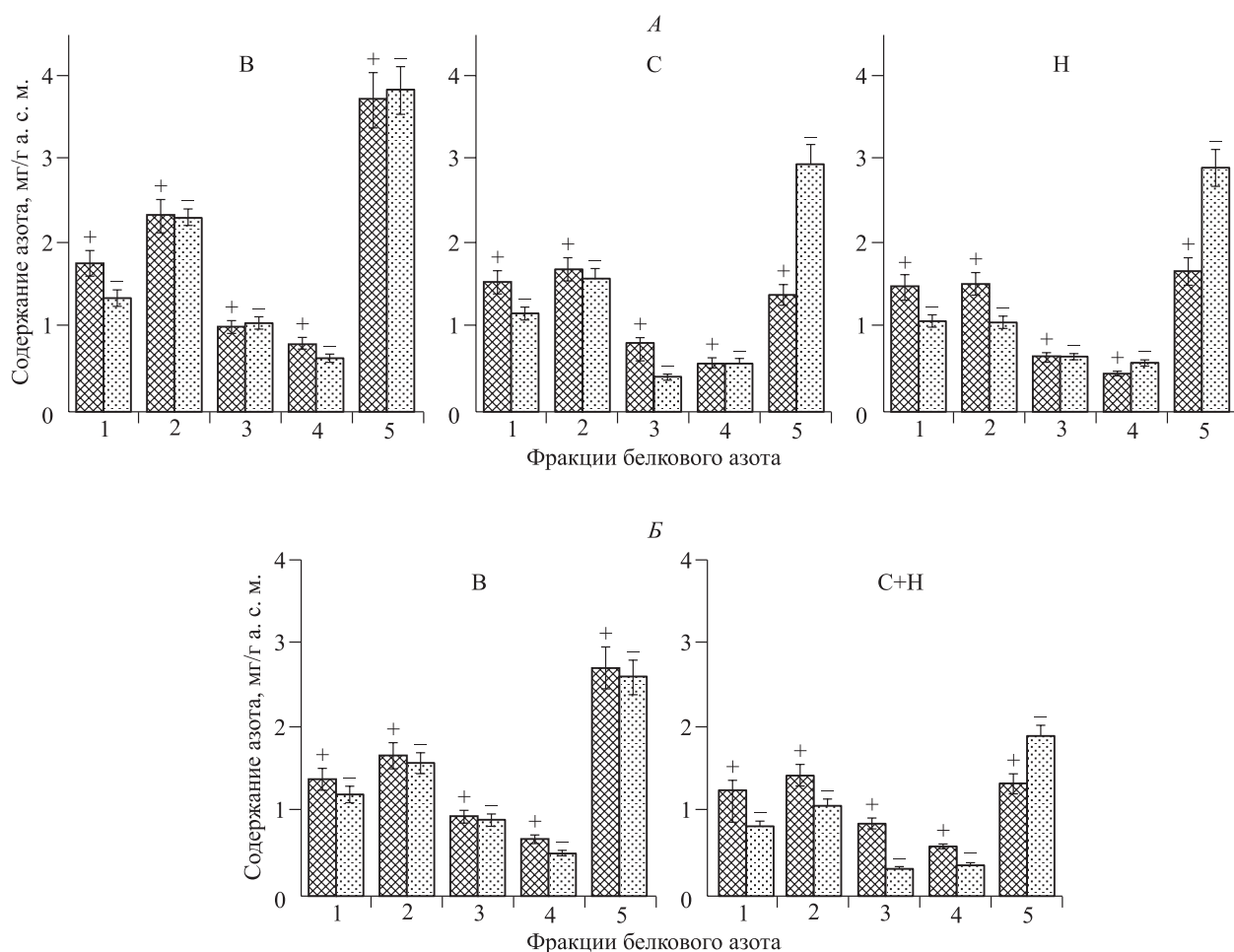


Рис. 4. Содержание отдельных фракций белкового азота в жизнеспособных (+) и нежизнеспособных (-) семенах из различных частей генеративного яруса кроны деревьев I (A) и IV (B) классов роста.

растворимой фракции (рис. 4, B). В то же время в нежизнеспособных семенах из объединенного образца со средней и нижней частей генеративной сферы этих деревьев (C + H) достоверное снижение отмечалось и в содержании водорастворимой фракции (33.6 %), тогда как количество труднорастворимой фракции увеличивалось.

Оценка достоверности различий в содержании отдельных фракций азота в жизнеспособных и нежизнеспособных семенах пихты показала, что в семенах с верхней части генеративного яруса кроны деревьев I класса роста различия были достоверны лишь для водо- и щелочерастворимой фракций. Различия в содержании отдельных форм белкового азота между исследуемыми категориями семян со средней и нижней частей генеративного яруса были достоверны для всех фракций, кроме общего азота и глютенинов. Их максимальное содержание найдено в верхней части генеративной сферы кроны, как и в жизнеспособных семенах.

Выявлены различия в содержании отдельных фракций азота в жизнеспособных и нежизнеспособных семенах пихты. В семенах с верхней части генеративного яруса кроны деревьев I класса роста отмечены различия лишь для водо- и щелочерастворимой фракций, а для семян со средней и нижней частей генеративного яруса кроны эти различия характерны для всех фракций белков, кроме глютенинов. Полученные данные согласуются с результатами проведенных ранее исследований Н. И. Мамонова и др. (1986), в которых отмечено уменьшение суммарного содержания сахаров и азотистых соединений в семенах пихты сибирской с увеличением срока их хранения. Однако следует отметить, что потеря жизнеспособности семенами пихты при хранении может быть связана не только с изменением фракционного состава белкового азота, но и с другими физиолого-биохимическими процессами, происходящими в семенах при их хранении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при хранении семян пихты сибирской изменяются как содержание общего и белкового азота, так и фракционный состав белков. Содержание этих фракций азота зависит от расположения семян в генеративной сфере кроны деревьев и от их фитоценотического положения в насаждении.

Основными растворимыми белками как в жизне-, так и в нежизнеспособных семенах являются альбумины и глобулины. При этом содержание альбуминов в нежизнеспособных семенах в среднем на 25 % ниже, чем в жизнеспособных, тогда как количество глютелинов и проламинов различается незначительно.

Изменения в составе белкового азота в нежизнеспособных семенах связаны в основном с относительным увеличением труднорастворимой фракции белков при одновременном снижении альбуминов, что, вероятно, является одной из причин потери всхожести семенами пихты сибирской при их хранении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеев В. А.* Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоя // Лесоведение. 1989. № 4. С. 51–57.
- Атлас Красноярского края и Республики Хакасия / под ред. И. В. Иванова. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1994. 37 с.
- Белова Н. В.* Жизнеспособность семян пихты сибирской в лесных экосистемах Восточного Саяна // Хвойные boreальной зоны. 2007. № 4–5. С. 474–477.
- Гродзинский А. М., Гродзинский Д. М.* Краткий справочник по физиологии растений. Киев: Наук. думка, 1973. 590 с.
- Данович К. Н., Соболев А. М., Жданова Л. П., Илли И. Э., Николаева М. Г., Аскоченская Н. А., Обручева Н. В., Хавкин Э. Е.* Физиология семян. М.: Наука, 1982. 319 с.
- Ермаков А. И., Арасимович В. В., Смирнова-Иконникова М. И.* Методы биохимического исследования растений. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1972. 456 с.
- Ермоленко В. В.* Фракционный состав белков и посевные качества семян пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb) в разных эколого-фитоценологических условиях: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08; 06.03.02. Красноярск: Ин-т леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, 2014. 22 с.
- Лесной план Красноярского края: Мин-во природных ресурсов Красноярского края. Красноярск, 2008. 1251 с.
- Мамонов Н. И., Погорелова Р. Ф., Спахова А. С.* Хранение семян основных лесобразующих пород. М.: Агропромиздат, 1986. 78 с.
- Некрасова Т. П., Рябинков А. П.* Плодоношение пихты сибирской. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1978. 139 с.
- Николаева М. Г.* Эколого-физиологические особенности покоя и прорастания семян (итоги исследований за истекшее столетие) // Ботан. журн. 2001. Т. 86. № 12. С. 1–13.
- Николаева М. Г., Лянгузова И. В., Поздова Л. М.* Биология семян. СПб.: Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова, 1999. 232 с.
- Починок Х. Н.* Методы биохимического анализа растений. Киев: Наук. думка, 1976. 334 с.
- Прокушкин С. Г., Ермоленко В. В., Ерохина З. В.* Влияние эколого-фитоценологических условий на фракционный состав белков и посевные качества семян пихты сибирской // Сиб. лесн. журн. 2014. № 6. С. 61–69.
- Третьякова И. Н.* Жизнеспособность пыльцы пихты сибирской в нарушенных лесных экосистемах гор Южной Сибири // Экология. 1994. № 6. С. 20–28.
- Третьякова И. Н., Бажина Е. В.* Морфоструктура кроны и состояние генеративной сферы у пихты сибирской в нарушенных лесных экосистемах близ озера Байкал // Изв. РАН. Сер. биол. 1995. № 6. С. 685–692.
- Третьякова И. Н., Ларионова Н. А., Бажина Е. В.* Жизнеспособность и содержание фитогормонов в пыльце пихты сибирской в нарушенных лесных экосистемах гор Южной Сибири // Лесоведение. 2003. № 4. С. 36–41.
- Bewley J. D.* Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Berlin: Springer Verlag, 1982. 375 p.
- Roberts E. H.* Temperature and seed germination // Plants and Temperature. Cambridge: Cop. Biol. Ltd., 1988. P. 109–132.

CHANGES IN THE CONTENT OF NITROGEN FRACTIONS WITH LOOSING VITAL CAPACITY OF THE SIBERIAN FIR *Abies sibirica* Ledeb. SEEDS

S. G. Prokushkin, V. V. Panova

*Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch,
Solitary Unit V. N. Sukachev Institute of Forest, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch
Akademgorodok, 50/28, Krasnoyarsk, 660036 Russian Federation*

E-mail: stanislav@ksc.krasn.ru, zzzzeeee@ya.ru

Siberian fir seeds often lose their germinating capacity during storage. This results from, among other factors, changing contents of nitrogen compounds in the seeds, especially those of protein fractions. This paper focuses on analyzing changes of these compounds in nonviable seeds of the species depending on ecological and conditions and stand location, as well as on tree growth class (Kraft growth classes I and IV). The contents of the total and protein nitrogen in the nonviable seeds of the trees of growth classes I and IV appeared to vary widely and to depend on stand location and seed location in the tree crown. The maximum contents were in the seeds located in the upper part of the crown. The seeds from the middle and lower crown parts contained much less total and protein nitrogen. The hard-to-solve protein fraction dominated over other protein fraction in the seeds from the upper part of the crowns of the trees of growth classes I and IV. However, this fraction, like prolamines, changed uniformly throughout the crowns, whereas seed glutelin content varied insignificantly among the crown parts. Albumins and globulins showed a uniform crown top-to-bottom decrease. A comparison of viable seed with unviable seeds for contents of the nitrogen forms revealed a marked decrease in the total and protein nitrogen in the latter, especially for the trees of growth class IV. The seeds that lost their germinating capacity exhibited increasingly hard-to-solve protein fraction and drastically decreasing albumins and globulins wherever the seeds were in the crown. Their glutelin and prolamine contents changed inconsiderably. The changes of the quantitative ratio between the protein fractions found by the study cause, along with other physiological and biochemical factors, the loss of viability of Siberian fir seeds during storage.

Keywords: *Siberian fir, seeds, loose of vitality, total nitrogen, albumin fractions.*

How to cite: *Prokushkin S. G., Panova V. V. Changes in the contents of nitrogen fractions with loosing vital capacity of the Siberian fir *Abies sibirica* Ledeb. seeds // Sibirskij Lesnoj Zurnal (Siberian Journal of Forest Science). 2017. N. 1: 37–43 (in Russian with English abstract).*