

Состав проламинов у ряда культивируемых злаков Оренбуржья и проблемы белкового маркирования

В.И. Авдеев, д.с.-х.н., А.Ж. Саудабаева, к.б.н., Оренбургский ГАУ, В.Д. Красавин, д.с.-х.н., Оренбургский НИИСХ Россельхозакадемии

В настоящее время метод белкового маркирования геномов растений является основным в селекции и семеноводстве. Проламины – запасные белки семян злаков (*Poaceae Barnh.*) – наиболее изучены ныне у пшеницы, ячменя, кукурузы, сорго, риса, ряда других растений, но слабо исследованы у проса [1]. Попытки же оценить генетическое разнообразие различных образцов проса из Евразии методом ДНК-маркёров (RAPD, ISSR) не дали весомых результатов [2]. Между тем у проса выделяют 2 подвида (просо посевное и просо сорное),

а внутри подвигов существуют особи проса, имеющие 2–6 типов метёлки – от развесистой и раскидистой до сжатой, комовой, есть и могаровидный тип [2, 3]. Гибридологическим анализом выявлено, что у проса доминантным признаком является грязно-жёлтая окраска ядра зерновки (преобладает у особей проса сорного), рецессивным – жёлтая окраска (есть у обоих подвигов) [3].

Метод белкового (полипептидного) маркирования цветковых растений успешно используют более полувека. Считают, что электрофоретические (ЭФ) спектры проламинов у злаков являются экологически нейтральными, давая в разных условиях среды один и тот же состав полипептидов. Поэтому белковый метод и рас-

смачивается в качестве очень эффективного молекулярного метода генетического анализа. Однако не следует забывать, что запасные белки семян – это ведь часть молекулярного фенотипа, внутри которого можно выделить как экологически стабильные, так и переменные по годам полипептиды, которые будут связаны с теми или иными факторами внешней среды [4].

В разные годы (2010, 2011 и 2013) изучен состав проламинов образцов пшеницы (твёрдой и мягкой), ячменя, проса по общепринятой методике [5]. Ряд трудностей вызывал анализ семян проса из-за обилия в них танинов [6]. Учитывая компьютерное обеспечение, принятое написание формул проламинов [5] было изменено. Степень яркости полипептидных компонентов проламинов выражали по-новому: курсив – яркость слабая, 1 балл; полужирный шрифт – яркость средняя, 2 балла; жирный шрифт – яркость сильная, 3 балла. Все иные обозначения в молекулярной формуле проламинов являются общепринятыми: в пределах каждого типа полипептидов (, , ,) строчный номер (1–10) – название полипептида (позиция на шкале), подстрочный номер – его положение (степень подвижности) на шкале из трёх возможных вариантов (1 – нижнее, низкомолекулярное, 2 – среднее, 3 – верхнее, более высокомолекулярное), при этом единственное положение компонента подстрочно не нумеровали. Для учёта молекулярной массы проламинов проса они сопоставлены с «соевой» шкалой, используемой для двудольных растений [5] (табл. 1–3; рис. 1–3).

Во все годы исследований ЭФ-спектры пшениц были однотипными, что говорит о высокой сортовой выравненности семян. Однако состав компонентов у разных сортов твёрдой и мягкой пшеницы был резко различным (табл. 1). У твёрдой пшеницы, несущей только геномы А и В рода *Triticum* L., изученные 4 сорта наиболее различаются в зонах - и -полипептидов, менее всего – в зоне -полипептидов. Самыми бедными по числу полипептидных компонентов были сорта группы «Мелянопус» (15 компонентов), 21 компонент содержат сорта из группы «Гордеиформе». Столь же различаются в тех же зонах и сорта мягкой пшеницы. Меньше всего компонентов было отмечено у сортов Пионерская 32, Оренбургская 105 (20 компонентов), более всего – у сорта Мироновская 808 (26 компонентов). По другим данным, у сорта Мироновская 808 содержится 21–25 компонентов [5, 7]. Итак, все сорта пшеницы можно уверенно выделить по ЭФ-спектрам глиадинов, т.е. их паспортизация весьма надёжна. От других сортов наиболее отличны сорта Пионерская 32, Саратовская 90 (табл. 1; рис. 1).

Существенно отличаются от пшеницы сорта ячменя (табл. 2; рис. 3). Так, у ячменя отсутствует компонент 9₃ в -зоне, но у пшеницы в той же зоне нет компонентов 4₁, 4₃. У сортов Анна, Донецкий 8, Натали, Оренбургский 11, Оренбургский 17 характерен в -зоне полипептид в позиции 3, однако довольно сходны сорта ячменя по зоне -полипептидов, которая, кстати, сходна и внутри групп сортов пшеницы (табл. 1, 2). Число компонентов изменяется от

1. Формулы проламинов пшеницы и проса

Культivar и типы ЭФ-спектра	α-полипептиды	β-полипептиды	γ-полипептиды	ω-полипептиды
Твёрдые тетраплоидные пшеницы (<i>Triticum durum</i> Desf.), 2n = 28, глиадины				
Гордеиформе	<i>1245₂₃6₂7₁</i>	23₂4₂5₂	<i>2₃4₂5</i>	234₂6₁6₂6₃8₁
Гордеиформе 7398	<i>1245₂₃6₂7₁</i>	23₂4₂5₂	<i>2₃4₂5</i>	234₂6₁6₂6₃8₁
Мелянопус	<i>456₁6₂7₁</i>	23₂4₂5₂	<i>2₂2₃5</i>	24₂6₂
Мелянопус 6641	<i>456₁6₂7₁</i>	23₂4₂5₂	<i>2₂2₃5</i>	24₂6₂
Мягкие гексаплоидные пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.), 2n = 42, глиадины				
Мироновская 808 – метчик	<i>1245₂6₁6₂7₁</i>	123₂4₂5₂	<i>2₂2₃3₂4₂5</i>	24₂6₂6₃7₂8₁9₁9₃10₂
	<i>245₂6₁6₂7₁</i>	123₂4₂5₂	<i>2₂2₃3₂4₂5</i>	24₂6₂6₃7₂8₁9₁9₃10₂
	<i>245₂6₁6₂7₁</i>	123₂4₂5₂	<i>2₂2₃3₂4₂5</i>	24₂6₂6₃7₂8₁9₁9₃10₂
Колос Оренбуржья	<i>5₃6₁7₁</i>	23₂4₂5₂	<i>2₂2₃3₂4₂5</i>	24₂6₂6₃7₂8₁9₁9₃10₂
	<i>15₃6₁7₁</i>	23₂4₂5₂	<i>2₂2₃3₂4₂5</i>	24₂6₂6₃7₂8₁9₁9₃10₂
Оренбургская 105	<i>246₁7₁</i>	3₂5₂	<i>2₃3₂4₂5</i>	234₂6₂6₃7₂8₁9₁9₃10₂
	<i>246₁7₁</i>	3₂5₂	<i>2₃3₂4₂5</i>	234₂6₂6₃7₂8₁9₁9₃10₂
Пионерская 32	<i>5₂6₁7₁</i>	123₂4₂5₂	<i>2₃3₂4₂5</i>	234₂6₂7₂8₁9₃10₂
	<i>5₂6₁7₁</i>	123₂4₂5₂	<i>2₃3₂4₂5</i>	234₂6₂7₂8₁9₃10₂
Саратовская 90	<i>1245₂6₁7₁</i>	23₂4₂5₂	<i>2₂2₃3₂4₂5</i>	24₂6₂6₃7₂8₁9₁9₃10₂
Просо культивируемое и просо сорное (<i>Panicum miliaceum</i> L. s.l.), 2n = 36, каферины				
Разные образцы	<i>125₂6₁6₂7₁</i>	23₂4₂5₂	<i>2₂2₃3₂4₂5</i>	6₂6₃7₂8₁9₁9₃10₂

Примечание: по сортам твёрдой пшеницы приведены данные за 2010 г., по пшенице сорта Мироновская 808, выращенной за пределами Оренбуржья, – данные соответственно за 2010 (верхняя строка), 2011 (средняя строка) и 2013 г. (нижняя строка), по пшенице сорта Саратовская 90 – данные 2011 г., по другим сортам – данные 2011 г. (верхняя строка) и 2013 г. (нижняя строка). По просу посевному и просу сорному – данные 2011 и 2012 гг.

2. Формулы гордеинов ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L., 2n = 14)

Культivar и тип ЭФ-спектра	α-полипептиды	β-полипептиды	γ-полипептиды	ω-полипептиды
Анна, первый тип	5 ₂ 6 ₂ 7 ₂	4 ₂ 5 ₁ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	4 ₃ 6 ₁ 7 ₂ 8 ₂
Анна, второй тип	34 ₂ 6 ₂ 7 ₂	4 ₁ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	4 ₃ 6 ₁ 7 ₂ 8 ₂
Анна, первый тип	5 ₂ 6 ₂ 7 ₂	3 ₂ 4 ₂ 5 ₁	4 ₃ 5 ₂	4 ₃ 6 ₁ 7 ₂ 8 ₂ 9 ₁
Анна, второй тип	35 ₂ 6 ₂ 7 ₂	24 ₁ 5 ₁ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	4 ₃ 6 ₁ 7 ₂ 8 ₂ 9 ₁
Донецкий 8, первый тип	34 ₂ 6 ₂	3 ₁ 4 ₁ 5 ₁ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	4 ₂ 4 ₃ 6 ₂ 7 ₂ 8 ₁
Донецкий 8, второй тип	34 ₂ 6 ₂	3 ₁ 4 ₁ 5 ₁ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	4 ₂ 4 ₃ 6 ₂ 8 ₁
Донецкий 8, третий тип	34 ₂ 6 ₂	3 ₁ 4 ₁ 5 ₁ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	4 ₂ 4 ₃ 6 ₂ 8 ₁
Натали, первый тип	5 ₂ 6 ₂ 7 ₂	4 ₁ 4 ₂ 5 ₁	4 ₃ 5 ₂	4 ₂ 6 ₁ 6 ₂ 7 ₂ 8 ₁ 9 ₁
Натали, второй тип	35 ₂ 6 ₂ 7 ₂	3 ₁ 4 ₁ 4 ₂ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	4 ₂ 6 ₁ 6 ₂ 7 ₂ 8 ₁ 9 ₁
Натали, первый тип	5 ₂ 6 ₂ 7 ₂	3 ₁ 4 ₂ 5 ₂	2 ₃ 3 ₅ 2	4 ₃ 6 ₁ 6 ₂ 8 ₁ 9 ₁
Натали, второй тип	5 ₂ 6 ₂ 7 ₂	3 ₁ 4 ₂ 5 ₂	2 ₃ 3 ₅ 2	4 ₃ 6 ₁ 6 ₂ 8 ₁ 9 ₁
Оренбургский совместный, первый тип	4 ₂ 6 ₂ 7 ₂	4 ₁ 4 ₂ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	24 ₁ 5 ₆ 6 ₃ 7 ₂ 8 ₂
Оренбургский совместный, второй тип	4 ₂ 6 ₂ 7 ₂	4 ₁ 4 ₂ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	24 ₁ 5 ₆ 6 ₃ 7 ₂ 8 ₂
Оренбургский совместный	4 ₂ 5 ₂ 6 ₂ 7 ₂	4 ₁ 4 ₂ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	24 ₁ 5 ₆ 6 ₃ 9 ₁
Оренбургский 11, первый тип	5 ₂ 6 ₂ 7 ₂	24 ₁ 4 ₂ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	24 ₁ 6 ₂ 6 ₃ 8 ₁
Оренбургский 11, второй тип	5 ₂ 6 ₂ 7 ₂	3 ₂ 4 ₁ 4 ₂ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	24 ₂ 6 ₂ 6 ₃ 8 ₁
Оренбургский 11, третий тип	35 ₂ 6 ₂ 7 ₂	3 ₂ 4 ₁ 4 ₂ 5 ₂	4 ₃ 5 ₂	4 ₂ 6 ₂ 6 ₃ 8 ₁
Оренбургский 17	34 ₂ 6 ₂	3 ₂ 4 ₂ 5 ₁ 5 ₂	2 ₂ 2 ₃	2 ₂ 4 ₃ 6 ₂ 8 ₁
	34 ₂ 6 ₂	3 ₂ 4 ₂ 5 ₁ 5 ₂	2 ₂ 2 ₃	2 ₂ 4 ₃ 6 ₂ 8 ₁

Примечание: в сорте первая строка или первые две строки – данные за 2011 г., последняя строка (сорт Оренбургский совместный) или последние две строки – данные за 2013 г. По сорту Донецкий 8 – данные 2011 г., по сорту Оренбургский 11 – данные 2013 г.

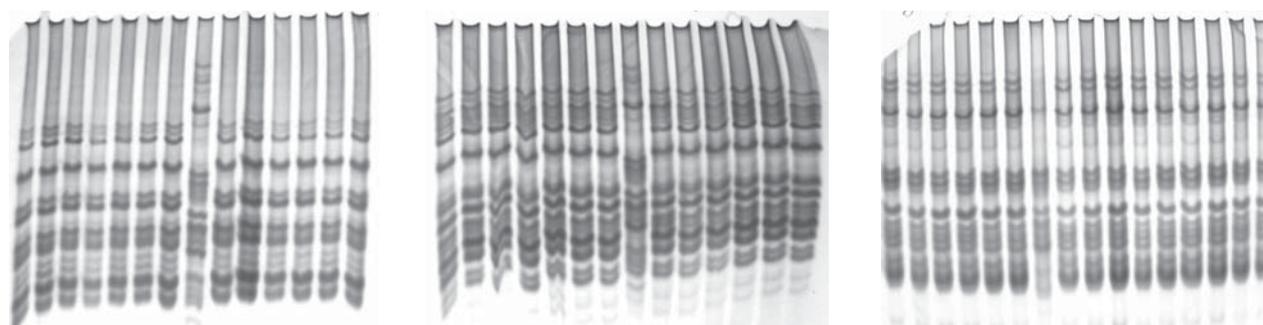
16 (сорт Натали) до 13 (сорты Донецкий 8, Оренбургский 17). Для целого ряда сортов ячменя (Анна, Донецкий 8, Натали, Оренбургский 11, менее – Оренбургский совместный) характерна невыравненность по составу гордеинов. Может быть, эти сорта и выглядят внешне однородными, но по спектрам проламинов они являются сорто-смесями, состоящими из отдельных биотипов. Сорт Натали в 2013 г. стал более однородным, чем он был в 2011 г. Среди ЭФ-спектров сорта Анна в 2011 г. обнаружен спектр, очень близкий к сорту Донецкий 8 [6]. Нужно сказать, что смешанность состава сортов была установлена и раньше на разных сортах ячменя, пшеницы, ржи, огурца и других видов, при этом внутри сортов той же пшеницы выявляли по 2–20 биотипов и более [8]. Одно время такие сорто-смеси считались показателем плохой работы семеновода, однако ныне принимается, что, при условии внешней однородности семян, эти сорто-смеси есть важный индикатор экологической адаптации возделываемых сортов [1]. Выявлена изменчивость ЭФ-спектров по годам, что можно объяснить влиянием разных условий среды (табл. 1, 2). Из сортов пшеницы это особенно видно на сорте Мироновская 808, у которой сохраняется единый «каркас» формулы глиадинов, однако же изменяется интенсивность отдельных компонентов. Это чрезвычайно важно, ибо этот сорт принят в качестве молекулярного метчика (рис. 1–3). Если же сопоставить разные данные, то и у этого сорта отмечены различия [5, 7]. По этим данным, в -зоне могут выпадать компоненты 3₁, 5₁, в -зоне – компоненты 1, 2₃, а в -зоне – компоненты 4₁, 6₁, 8₂, 9₂, 10₁. Как следует из таблицы 1, названные выше

компоненты здесь тоже отсутствуют, кроме компонента 2₃. Такое же варьирование по годам ЭФ-спектров отмечено и на других сортах пшеницы, ячменя. Так, у сорта пшеницы Колос Оренбуржья в -зоне нестабилен компонент 1 (и это обычное дело), в 2013 г. резко усилена интенсивность компонентов в позициях 8–10 (это же усиление отмечено и у сорта Оренбургская 105). Значительные изменения по годам особенно видны у сортов ячменя (табл. 1, 2). Таким образом, сведения о нестабильности ряда ЭФ-компонентов, полученные на абрикосе [4], вполне подтверждаются и на культивируемых злаках.

На фоне этих данных, наоборот, выявляется мономорфность ЭФ-спектров у проса. В 2011 г. были изучены два образца Оренбургского НИИСХ – проса посевного (№ 412-10) и проса сорного (№ 96-10). Их спектры были идентичны (табл. 1). В 2012 г. проанализированы 5 образцов проса посевного различного происхождения (форма метёлок – комовая, сжатая, раскидистая, а окраска зерновки – красная, жёлтая, бронзовая) и 5 образцов проса сорного (форма – сжатая и раскидистая, окраска – кофейная, чёрная). Все эти изученные образцы не имели существенных различий по белковым маркерам так, чтобы их можно идентифицировать. Всего в ЭФ-спектрах проса имеются 22 компонента, из них 7 компонентов (или почти 32%) приходится на высокомолекулярную -зону, в низкомолекулярной -зоне – их около 27% (табл. 1). Позиции компонентов по «соевой» шкале также показывают на исключительную близость этих образцов культивируемого и сорного проса. У этого очень ценного растения впервые опреде-

3. Полипептидный спектр каферинов проса (*Panicum miliaceum* L. s.l.; 2n = 36)

Позиции полипептидов проламинов (каферинов) по шкале (1 балл – слабой, 2 балла – сильной интенсивности)										
2	4	6	10	11	12	14	15	19	20	22
1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
23	26	27	30	32	35	37	39	41	42	43
1	2	2	1	2	2	1	2	1	1	1
45	48	50	51	53	56	58	60	62	66	69
1	1	2	1	2	2	2	1	1	2	1
71	74	78	80	83	88	90	93	96	98	100
1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1



Сорт Мелянопус 6641

Сорт Гордеиформе

Сорт Пионерская 32

Рис. 1 – Сорта твёрдой (слева 2 сорта) и мягкой пшеницы (положение сорта-метчика Мироновская 808 следующее: на электрофореграммах с сортами Мелянопус 6641 – шестой справа, Гордеиформе – пятый справа, Пионерская 32 – седьмой слева, у сорта Анна – первый справа, сорта Натали – восьмой слева)

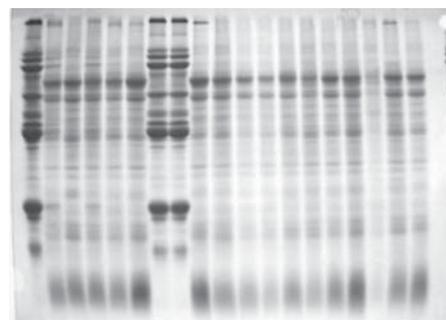
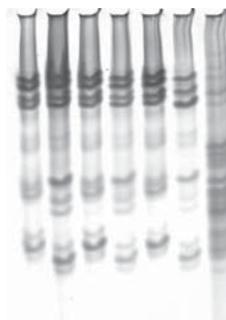
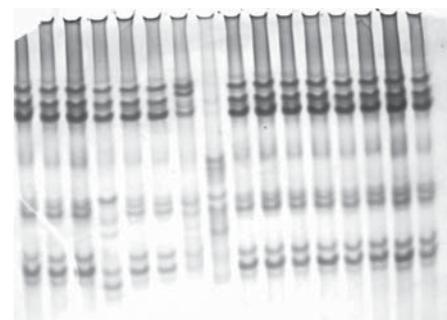


Рис. 2 – Образцы проса посевного (слева, между метчиками) и проса сорного



Сорт Анна



Сорт Натали

Рис. 3 – Сорта ячменя

лён состав, степень интенсивности компонентов. Всего были выделены 44 компонента. Из них на высокомолекулярную зону полипептидов (позиции 1–22) приходится 12 компонентов (25,0%), а низкомолекулярную зону (позиции 80–100) занимают 8 компонентов, или 18,2% (табл. 3). Учитывая стабильность по годам каферинов проса, можно рекомендовать его ЭФ-спектры, имеющие необходимые компоненты-метчики в позициях 10, 50 и 90 (табл. 3; рис. 2), для использования в качестве молекулярных метчиков при изучении разных видов культивируемых образцов злаков.

Данные по каферинам проса размещены вместе с глиадами пшениц по той причине, что у них найдено больше сходства, чем с гордеинами ячменя, хотя и пшеница, эгилопс, рожь, пырей, ячмень, ряд других родов относятся, как извест-

но, к трибе пшеницевых (*Triticeae Dum.*) Так, у мягких пшениц и проса в –зоне есть общие и уникальные компоненты 9₃ и 10₂, которые, как считают [6, 7], вместе с компонентами 8₁9₁ маркируют у сортов пшеницы (Мироновская 808, Саратовская 90, Оренбургская 105, Колос Оренбуржья, ряд других сортов) высокую морозостойкость. Весьма большое сходство проса и изученных видов пшеницы наблюдается и по остальным зонам полипептидов (табл. 1). Принято считать, что культивируемая гексаплоидная пшеница (*Triticum aestivum* L.) когда-то сформировалась на основе пшеницы тетраплоидной («настоящей» пшеницы, *Triticum durum* Desf.) путём её спонтанной гибридизации с видами эгилопса (*Aegilops* L., геном D). Данные же о родстве гексаплоидной пшеницы и проса по проламинам, этим важным запасным белкам

семян, позволят, видимо, уточнить в будущем степень их генетического родства.

Литература

1. Конарев А.В. Использование молекулярных маркёров в решении проблем генетических ресурсов растений и селекции // Аграрная Россия. 2006. № 6. С. 4–22.
2. Введенская И.О., Ваухан Д.А., Курцева А.Ф. и др. Оценка генетического разнообразия проса обыкновенного (*Panicum miliaceum* L.) на основе использования ДНК-маркёров // Сельскохозяйственная биология. 2002. № 5. С. 56–63.
3. Красавин В.Д. Идентификация проса сорного (*Panicum miliaceum subsp. ruderale*) и проса посевного (*Panicum miliaceum subsp. miliaceum*). Оренбург: НИИСХ РАСХН, 2002. 28 с.
4. Авдеев В.И. Биоэкологические и морфологические связи маркёров запасных белков семян у культиваров абрикоса // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2013. № 2. С. 241–246.
5. Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян / под ред. академика РАСХН В.Г. Конарева. СПб.: ВНИИР им. Н.И. Вавилова, 2000. 186 с.
6. Авдеев В.И., Саудабаева А.Ж. Белковые маркёры у ряда культивируемых злаков в Оренбуржье // Вестник Оренбургского государственного педагогического университета. Электронный научный журнал. Оренбург. 2012. № 4. ISSN 2303-9922. URL: <http://www.vestospu.ru>
7. Губарева Н.К., Алпатьева Н.В. К вопросу об использовании белковых маркёров в оценке морозостойкости озимой мягкой пшеницы // Аграрная Россия. 2002. № 3. С. 31–34.
8. Гаврилюк И.П. Молекулярные маркёры в идентификации, регистрации и сохранении биоразнообразия растений // Биоразнообразие и биоресурсы Урала и сопредельных территорий: матер. междунар. конф. Оренбург: ОГПУ, 2001. С. 68–69.