

УДК 631.52:581.19

В. И. Авдеев**Нестабильность белковых маркеров у злаков**

Прежнее представление об экологической неизменности электрофоретических полипептидных спектров запасных белков семян растений не соответствует реальности. Но по стабильной части спектров сорта пшеницы, ячменя хорошо идентифицируются.

Ключевые слова: сорта пшеницы, ячменя, полипептидные маркеры, их стабильные и нестабильные компоненты.

В настоящее время установлено, что практически все хозяйственно ценные признаки являются по своей природе полигенными, контролируются генами, локализованными в различных хромосомах растений. В этой связи по принятой в генетике классификации такие признаки относят к категории так называемых количественных признаков. Изменчивость этих признаков имеет сложный, непрерывный, плавный характер. Это связано, в отличие от простых менделевских качественных признаков, с ослаблением роли доминантности, усилением роли аддитивности (суммарного эффекта) многих генов [1–3 и др.].

В. Г. Конарев [3] предлагал сложные количественные признаки делить на биологические свойства и хозяйственные признаки. К первым он относил признаки, которые связаны с устойчивостью к абиотическим и биотическим факторам внешней среды (морозостойкость, засухоустойчивость и т.д.), а ко вторым — признаки, возникшие при культивировании растений, полезные для человека (выход и свойства клейковины, вкус плода и т.п.). Конечно же, и первые являются также полезными для человека, поскольку всегда стоит задача роста продуктивности сельскохозяйственных растений. По этой причине обе группы признаков сейчас принято называть селекционными признаками.

Однако биологический анализ селекционных признаков остается пока еще сложной проблемой. Для обнаружения генов этих признаков необходимо выявление их внешних сигналов (маркеров). В качестве последних были предложены электрофоретические компоненты запасных белков семян, технически дающие в лаборатории стабильные результаты [3 и 4]. При этом маркеры могут быть во многих случаях видо- и сортоспецифичными (т.е. различными у генетически отдаленных видов, сортов) и подвергаться влиянию внешних (стало быть, и погодных) факторов. Последней особенностью пока уделяется мало внимания: полагают, что белковые маркеры экологически менее всего изменчивы или же они исключительно стабильны [1, 3, 5 и др.]. Теперь же выясняется, что на самом деле электрофоретические спектры компонентов запасных белков семян глобулинов у двудольных растений, как и проламинов у злаков (однодольных растений), подвержены в той или иной степени изменчивости под влиянием метеорологических факторов среды [6 и 7]. Тем самым возникает возможность маркировать эти факторы с помощью запасных белков семян. Экологическая изменчивость белковых маркеров обусловлена нестабильной частью генотипа растения, тогда как лишь стабильная часть белковых спектров может использоваться для формирования молекулярных паспортов.

При изучении генофонда культивируемой озимой мягкой пшеницы были выделены компоненты белков-проламинов (глиадины), маркирующие высокую морозостойкость проростков семян [1 и 5]. На сегодняшний день это, пожалуй, крупнейший успех при использовании молекулярно-биологических методов в селекции и сортоизучении культивируемых злаков. При изучении генофонда ячменя компоненты проламинов (гордеины)

© Авдеев В. И., 2015

больше применяются при оценке сортовой принадлежности и чистоты семян [8 и 9], а лишь только отчасти для маркирования морозостойкости и зимостойкости, продуктивности сортов [1]. В. Г. Конарев [3] рекомендовал изучать проламины злаков как универсальные маркеры устойчивости их к низким температурам (гипотермии), высоким температурам (гипертермии) и к водному стрессу при прорастании семян сортовых злаков. Кроме того, известно, что запасные белки-проламины — главная составляющая часть клейковины зерна.

Анализ компонентов проламинов сортов пшеницы, ячменя и написание их молекулярных формул были проведены по общепринятой во ВНИИР им. Н. И. Вавилова методике, а в качестве молекулярного метчика использовали проламиновый спектр мягкой пшеницы сорта Мироновская 808 [8; рис. 1]. Но, учитывая компьютерное оснащение, степень яркости компонентов выражали по-новому [7]: курсив — яркость слабая, 1 балл; полужирный шрифт — яркость средняя, 2 балла; жирный шрифт — яркость сильная, 3 балла. Все другие обозначения в молекулярных формулах проламинов являются общепринятыми и даны по соответствующей международной шкале (рис. 1): в пределах каждого типа полипептидов [α , β , γ , ω и быстрые полипептиды (БП)] строчным номером (1–10) давали название (позицию на шкале) компонента, подстрочным номером — его положение (степень подвижности на шкале) из трех возможных вариантов (1 — нижнее, 2 — среднее, 3 — верхнее, более высокомолекулярное), при этом единственное положение компонента в спектре проламинов подстрочно не нумеровали (см. табл. 1 и 2).

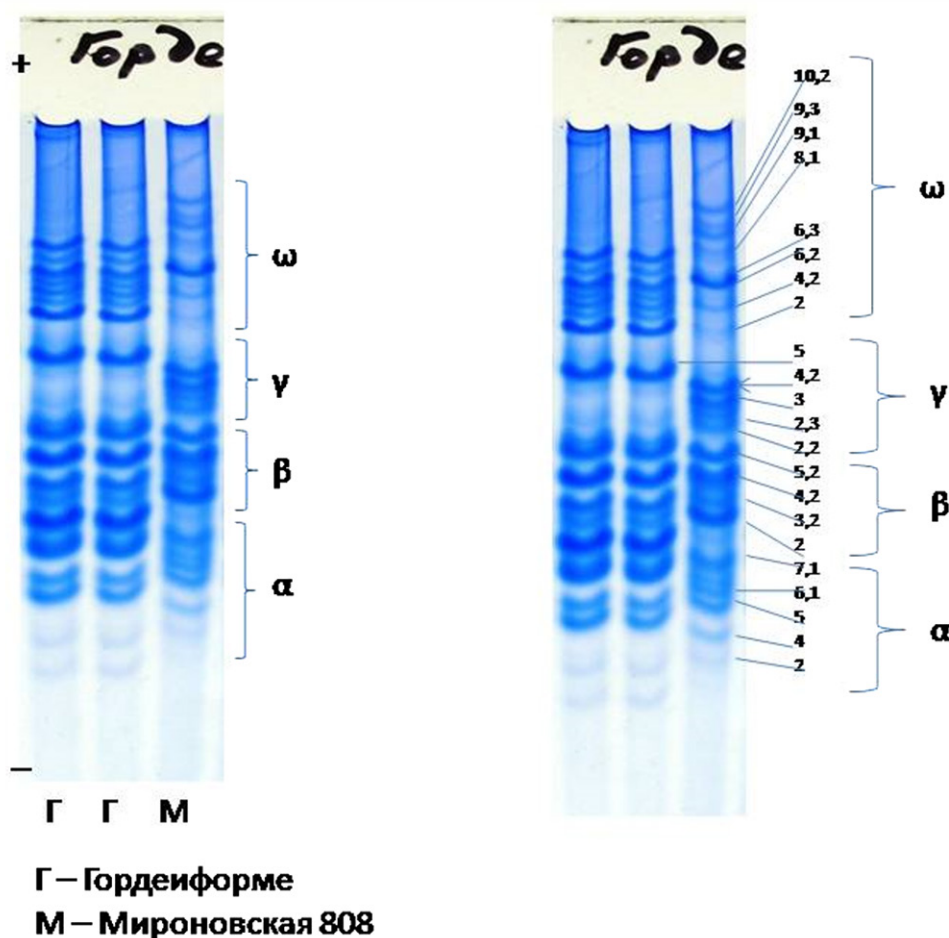


Рис. 1. Шкала стандартных спектров пшеницы, используемая для написания формул проламинов злаков

В предыдущей работе [7] за разные годы выявлены формулы проламинов у сортов пшеницы, ячменя, форм проса. При этом оказалось, что у пшеницы внутри каждого сорта не отмечено варьирования состава компонентов, т.е. эти сорта были выровнены по составу биотипов в данном году, а различались лишь в разные годы под влиянием метеословий (т.е. экологических факторов). Сорта же ячменя сильно варьировали как внутри себя в один календарный год (т.е. являлись смесью биотипов), так и по отдельным годам (т.е. экологически). У форм проса, наоборот, в обоих случаях отмечено постоянство молекулярных формул проламинов [7]. Как уже было выше отмечено, изменчивость формул проламинов растений по отдельным годам представляет собой нестабильную часть генотипа (сорта, формы). Поэтому необходимо ее вычленивать, отделить от стабильной части, которая и может быть использована для характеристики (в том числе паспортизации) генотипа.

Как видно из представленных данных таблицы 1, проламины (глиадины) изученных сортов пшеницы являются по годам довольно стабильными, тем самым оправдывая свое предназначение как молекулярного маркера. Лишь у сортов Мироновская 808 и особенно Колос Оренбуржья среди α -полипептидов по годам исчезает компонент $\alpha 1$. У этих сортов нестабильность генотипа может оцениваться не больше чем на 4–5%, что говорит о высокой адаптивности новых селекционных сортов мягкой пшеницы. Однако в этой таблице степень яркости (интенсивности) компонентов была усреднена. На самом деле хотя приведенные стабильные компоненты действительно существуют, однако по годам их яркость может изменяться. Особенно это характерно для сорта Колос Оренбуржья, у которого в 2011 г. сильно ослабили α -компоненты, а в 2013 г. там же появились яркие компоненты, включая названный компонент $\alpha 1$. Вообще такие изменения присущи компонентам α - и ω -полипептидов всех сортов, их почти нет у других типов полипептидов. Поэтому если оценивать уровень нестабильности по яркости компонентов, то она составила в среднем у сортов Колос Оренбуржья 58%, Мироновская 808 — 49%, Оренбургская 105 и Пионерская 32 — по 30%. Общая численность компонентов по разным сортам различна: у Оренбургской 105 и Пионерской 32 их было в спектрах по 20 компонентов, а больше всего — у сорта Мироновская 808 (26 компонентов). В имеющейся литературе можно найти экспериментальные данные об еще большей нестабильности по годам спектров сорта Мироновская 808. Так, у него могут выпадать такие компоненты, как $\beta 3_1, \gamma 12_3, \omega 4_1, 8_2, 9_2, 10_1$ [5 и 8]. По этим же данным, сорт Мироновская 808 содержит в спектрах 21–25 компонентов, тогда нестабильность только за счет их выпадения по годам составляет в среднем около 40%. В условиях Оренбуржья у этого сорта озимой пшеницы нет восьми из названных компонентов, кроме компонента $\gamma 2_3$ (см. табл. 1).

Таблица 1

Формулы проламинов у сортов мягкой озимой пшеницы (2010–2014 гг.)

Сорт	α -полипептиды	β -полипептиды	γ -полипептиды	ω -полипептиды
Стабильные по годам компоненты спектра				
Мироновская 808	245 ₂ 6 ₁ 6 ₂ 7 ₁	123 ₂ 4 ₂ 5 ₂	2 ₂ 2 ₃ 3 ₂ 4 ₂ 5	24 ₂ 6 ₂ 6 ₃ 7 ₂ 8 ₁ 9 ₁ 9 ₃ 10 ₂
Колос Оренбуржья	5 ₃ 6 ₁ 7 ₁	23 ₂ 4 ₂ 5 ₂	2 ₂ 2 ₃ 3 ₂ 4 ₂ 5	24 ₂ 6 ₂ 6 ₃ 7 ₂ 8 ₁ 9 ₁ 9 ₃ 10 ₂
Оренбургская 105	246 ₁ 7 ₁	3 ₂ 5 ₂	2 ₃ 3 ₂ 4 ₂ 5	234 ₂ 6 ₂ 6 ₃ 7 ₂ 8 ₁ 9 ₁ 9 ₃ 10 ₂
Пионерская 32	5 ₂ 6 ₁ 7 ₁	123 ₂ 4 ₂ 5 ₂	2 ₃ 3 ₂ 4 ₂ 5	234 ₂ 6 ₃ 7 ₂ 8 ₁ 9 ₃ 10 ₂
Нестабильные по годам компоненты спектра				
Мироновская 808	1	нет	нет	нет
Колос Оренбуржья	1	нет	нет	нет
Оренбургская 105	нет	нет	нет	нет
Пионерская 32	нет	нет	нет	нет

Сорт Оренбургская 105 имеет бедный состав β -полипептидов, а сорт Мироновская 808 — богатый состав α -полипептидов, между этим сортом и Пионерская 32 есть сильное сходство по β -полипептидам (табл. 1).

Выше шла речь о маркерах морозостойкости сортов пшеницы. По А. А. Созинову [1], у озимой мягкой пшеницы есть 7 блоков компонентов, связанных с этим важным признаком, но позднее из них 4 блока таковыми не признаны. В работе Н. К. Губаревой, Н. В. Алпатьевой [5] названы 3 блока компонентов, связанных с морозостойкостью и относящихся к α - и ω -полипептидам. Анализ на этот счет сортов пшеницы (табл. 1) показывает следующее [10]. Изученные сорта (включая высокозимостойкий сорт Саратовская 90) не имеют маркеров $\omega 8_2 9_2$ низкой морозостойкости, но имеют маркеры $\alpha 5_3 6_1 7_1$ (как у зимостойкого сорта Колос Оренбуржья), которые, однако, признают по другим сортам за показатель очень низкой морозостойкости. Сорта Колос Оренбуржья, Саратовская 90, Оренбургская 105, Мироновская 808 содержат необходимые для высокой морозостойкости компоненты $\omega 8_1 9_1 9_3 10_2$. У сорта Пионерская 32 отсутствует маркер $\omega 9_1$, но есть маркеры $\alpha 5_2 6_1 7_1$ (см. табл. 1). Очевидно, что высокая степень морозостойкости у озимой пшеницы больше связана с названными компонентами ω -полипептидов. Касаясь же названных в работе А. А. Созинова семи блоков компонентов морозостойкости [1], можно сказать, что у изученных нами сортов только лишь блоки $\gamma 2 \omega 78$, $\omega 9_1 9_3 10_2$, $\beta 3 \gamma 3 \omega 46$ могут быть связаны с высокой морозостойкостью.

У изученных сортов ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L., $2n = 14$) число компонентов в спектрах изменяется от 16 (сорт Натали) до 13 (сорта Донецкий 8, Оренбургский 17). Для всех этих сортов (Анна, Донецкий 8, Натали, Оренбургский 11, Оренбургский Совместный) характерно наличие внутри них двух или трех биотипов. Более того, по годам состав спектров также может значительно изменяться [7; табл. 2].

Таблица 2

Формулы проламинов у сортов ярового ячменя обыкновенного (2011–2014 гг.)

Сорт и тип спектра	α -полипептиды	β -полипептиды	γ -полипептиды	ω -полипептиды
Стабильные по годам компоненты спектра				
Анна, первый тип	$5_2 6_2 7_2$	$4_2 5_1$	$4_3 5_2$	$4_3 6_1 7_2 8_2$
Анна, второй тип	$3 6_2 7_2$	$4_1 5_1 5_2$	$4_3 5_2$	$4_3 6_1 7_2 8_2$
Натали, первый тип	$5_2 6_2 7_2$	4_2	5_2	$4_2 6_1 8_1 9_1$
Натали, второй тип	$5_2 6_2 7_2$	$3_1 4_2 5_2$	5_2	$4_2 6_1 6_3 8_1 9_1$
Оренбургский 17	$3 4_2 6_2$	$3_2 4_2 5_1 5_2$	$2_2 2_3$	$2 4_3 6_2 8_1$
Оренбургский Совместный, первый тип	$4_2 6_2 7_2$	$4_1 4_2 5_2$	$4_2 5_2$	$2 4_1 6_2 6_3$
Оренбургский Совместный, второй тип	$4_2 6_2 7_2$	$4_1 4_2 5_2$	$4_2 5_2$	$2 4_1 6_3$
Нестабильные по годам компоненты спектра				
Анна, первый тип	нет	$3_2 5_2$	нет	9_1
Анна, второй тип	$4_2 5_2$	2	нет	9_1
Натали, первый тип	нет	$3_1 4_1 5_1 5_2$	$2_3 3 4_3$	$6_2 7_2$
Натали, второй тип	3	4_1	$2_3 3 4_3$	7_2
Оренбургский 17	нет	нет	нет	4_2
Оренбургский Совместный, первый тип	5_2	нет	нет	$5 7_2 8_2 9_1$
Оренбургский Совместный, второй тип	5_2	нет	нет	$5 6_2 8_1 9_1$

Если учесть нестабильность только по самим компонентам, то она составляет 14% у сорта Оренбургский 17, у сортов Анна — 21–25%, Оренбургский Совместный — 31%, Натали — в среднем 42%. По изменению же яркости компонентов нестабильность намного выше, равна в среднем от 40% у сорта Оренбургский Совместный до 51–54% у сортов Анна, Оренбургский 17 и до 64% у сорта Натали.

Спектры ячменя существенно отличаются от спектров мягкой пшеницы. Так, у ярого ячменя нет компонента ω_9 (т.е. одного из компонентов высокой зимостойкости), зато у него имеются компоненты $\omega_{4_1,4_3}$, отсутствующие как у твердой тетраплоидной пшеницы (*Triticum durum* Desf., $2n = 28$), так и у мягкой гексаплоидной пшеницы — *Triticum aestivum* L., $2n = 42$ [7; см. табл. 1 и 2].

В связи с приведенными выше данными встает законный вопрос: можно ли по выявленным проламиновым формулам идентифицировать изученные сорта, особенно ячменя, где высока доля нестабильных компонентов?

Это легче сделать для сортов пшеницы (см. табл. 1). Так, у Мироновской 808 присутствует в спектрах стабильный компонент α_6 , у Колоса Оренбуржья — это компонент α_5 и отсутствуют компоненты α_{24} , у Оренбургской 105 нет компонентов α_5 или α_3 и компонента β_4 , у Пионерской 32 не содержатся компоненты α_{24} и ω_6 и т.д.

Сложнее это сделать для ячменя, ибо по годам у него могут быть или же выпадать целые группы компонентов, в том числе яркие (см. табл. 2). Но сорта Анна можно отличить по одновременному наличию компонентов γ_4 и ω_4 , Натали — по групповому наличию компонентов $\omega_{4_2,8_1}$, Оренбургский 17 — по наличию компонента γ_2 и отсутствию компонентов $\omega_{6_1,6_3}$, Оренбургский Совместный — по наличию компонента α_4 при отсутствии группы компонентов ω_{26_1} . Выше говорилось, что все изученные сорта, кроме Оренбургский 17, представлены смесью биотипов. Самые высокоурожайные сорта Оренбургский 11, Донецкий 8 имеют три типа спектров, что можно расценивать как важный индикатор их экологической адаптации. Биотипы сорта Оренбургский 11 имеют отличия по компонентам α_3 , β_2 и ω_{24} , а сорта Донецкий 8 — по компонентам $\omega_{4_2,4_3,7}$ [7]. Наименее урожайный из них сорт Натали содержит особенные отличия по компонентам β - и γ -полипептидов (табл. 2), которые, как считается, связаны с аллелями продуктивности ячменя (см. [1]). Можно сказать, что эти сорта обладают хотя бы средней морозостойкостью, ибо у них в спектрах есть соответствующие маркеры — компоненты $\omega_{8_1,9_1}$ и т.п. (см. табл. 2). Необходимо сказать, что набор маркеров высокой морозостойкости имеют сорные формы проса, ряд видов дикорастущих злаков, успешно зимующих в виде семян в открытом грунте, даже сорта и формы культивируемого проса [7, 11, 12].

Список использованной литературы

1. Созинов А. А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. М. : Наука, 1985. 272 с.
2. Теоретические основы селекции : сб. статей / под ред. акад. В. Г. Конарева. М. : Колос, 1993. Т. 1 : Молекулярно-биологические аспекты прикладной ботаники, генетики и селекции. 448 с.
3. Конарев В. Г. Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений. СПб. : ВНИИР им. Н. И. Вавилова, 1998. 376 с.
4. Конарев А. В. Использование молекулярных маркеров в решении проблем генетических ресурсов растений и селекции // *Аграрная Россия*. 2006. № 6. С. 4–22.
5. Губарева Н. К., Алпатьева Н. В. К вопросу об использовании белковых маркеров в оценке морозостойкости озимой мягкой пшеницы // *Аграрная Россия*. 2002. № 3. С. 31–34.
6. Авдеев В. И. Биоэкологические и морфологические связи маркеров запасных белков семян у культиваров абрикоса // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2013. № 2. С. 241–246.
7. Авдеев В. И., Саудабаева А. Ж., Красавин В. Д. Состав проламинов у ряда культивируемых злаков Оренбуржья и проблемы белкового маркирования // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2013. № 5. С. 25–29.

8. Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян / под ред. акад. В. Г. Конарева. СПб. : ВНИИР им. Н. И. Вавилова, 2000. 188 с.
9. Поморцев А. А., Лялина Е. В. Оценка сортовой принадлежности и сортовой чистоты семян ячменя методом электрофоретического анализа запасных белков. М. : ООО «Цифровичок», 2011. 86 с.
10. Авдеев В. И., Саудабаева А. Ж. Белковые маркеры у ряда культивируемых злаков в Оренбуржье [Электронный ресурс] // Вестник Оренбургского государственного педагогического университета. Электронный научный журнал. 2012. № 4 (4). С. 28–33. URL: http://vestospu.ru/archive/2012/stat/avdeev_saudabaewa_2012_4.pdf
11. Авдеев В. И., Саудабаева А. Ж. Белковые маркеры ряда дикорастущих злаков Оренбуржья и проблемы биосистематики [Электронный ресурс] // Вестник Оренбургского государственного педагогического университета. Электронный научный журнал. 2014. № 1 (9). С. 7–11. URL: http://vestospu.ru/archive/2014/articles/2_9_2014.pdf
12. Авдеев В. И., Саудабаева А. Ж. Новые данные по белковым маркерам ряда дикорастущих видов злаков Крыма и Приуралья [Электронный ресурс] // Вестник Оренбургского государственного педагогического университета. Электронный научный журнал. 2014. № 3 (11). С. 9–14. URL: http://vestospu.ru/archive/2014/articles/2_11_2014.pdf

Поступила в редакцию 19.01.2015 г.

Авдеев Владимир Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Оренбургский государственный аграрный университет
460014, Российская Федерация, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18
E-mail: avdeev_vl_iv@mail.ru

UDC 631.52:581.19

V. I. Avdeev

Protein markers instability of gramineous plants

The former vision of ecological constancy of electrophoretic polypeptide spectra of reserve proteins of the plant seeds is barely realistic. However, according to the stable part of the spectra, wheat and barley breeds can be well identified.

Key words: wheat breeds, barley breeds, polypeptide markers, their stable and unstable components.

Avdeev Vladimir Ivanovich, Doctor of Agricultural sciences, Professor
Orenburg State Agrarian University
460014, Russian Federation, Orenburg, ul. Chelyuskintsev, 18
E-mail: avdeev_vl_iv@mail.ru