

УДК 633.11:581.134.4

## ФРАКЦИОННЫЙ И КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ГЛИАДИНОВ ЗЕРНА ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ

Р. У. МАХМУДОВ, Д. А. АЛИЕВ, Б. П. ПЛЕШКОВ  
(Кафедра агрономической и биологической химии)

Глубокие исследования запасных белков зерна пшеницы, в том числе и глиадинов, позволяют всесторонне оценить селекционный материал [10]. Компонентный состав глиадинов генотипичен, он не зависит от года репродукции и условий выращивания растений [3, 8, 11]. Зная компонентный состав глиадинов, можно решить вопросы филогении пшеницы [4, 16, 19], идентификации сортов [4, 12, 13, 17], установить изменения белковых компонентов при гибридизации и мутагенезе [5, 18, 23], а также природу качества зерна пшеницы [15, 20, 21].

Важное значение имеет исследование свойств родителей, их способности передавать желаемые признаки гибридному потомству. С этой целью нами изучались состав и свойства глиадиновой фракции перспективных сортов пшеницы местной и зарубежной селекции, различающихся по продуктивности и содержанию белка.

### Материал и методика исследований

Опыты проводили в 1980 г. на Апшеронской экспериментальной базе АзНИИ зем-

леделия. Почва опытного участка сероземная. Климат субтропический с сухим, умеренно жарким летом, мягкой зимой и солнечной осенью [1]. Вносили минеральные удобрения в нормах 100N120P60K по принятой на экспериментальной базе методике.

Характеристика исследуемых сортов пшеницы следующая: Севиндж — высокорослая высокобелковая твердая пшеница, урожайность средняя; Шарк — среднерослая урожайная твердая пшеница; Кавказ — среднерослая высокоурожайная мягкая пшеница; Овиачик 65 — низкорослая высокоурожайная твердая пшеница мексиканской селекции.

Зерно пшеницы измельчали в циклонной мельнице, глиадины экстрагировали из муки 70 %-ным спиртом после удаления легкорастворимых белков 0,005 молярным фосфатным буфером [9]. Затем экстракты глиадинов диализовали против 0,1 н.  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . После диализа в белковый раствор добавляли мочевины до конечной концентрации 2 моля.

Гельхроматографию глиадинов проводили на сверхтонком сефадексе G-100 [2], ис-

Таблица 1

## Урожай зерна пшеницы и содержание в нем белка

Сорт	Белок, %	Урожай зерна, ц/га	Сбор белка, ц/га
Кавказ	13,4	52,0	7,0
Шарк	12,8	52,4	6,6
Севиндж	15,2	32,3	4,9
Овиачик 65	13,8	63,0	8,7

пользуя хроматографическую колонку размером  $4 \times 100$  см, на которую наносили около 100 мг белка. Последний элюировали 2 молярной мочевиной со скоростью 8—10 мл в 1 ч, объем отбираемых фракций — 5 мл. Концентрацию белка во фракциях определяли спектрофотометрически при длине волны  $\lambda=280$  по методике Плешкова [9].

Компонентный состав белков отдельных хроматографических фракций устанавливали электрофорезом в полиакриламидном геле в кислой буферной системе — рН 3,1 [9].

Содержание белка определяли методом Кьельдаля с осаждением по Барнштейну [9]. Гидролиз белков проводили с 6 н. HCl (24 ч при  $105^\circ$ ) в запаянных ампулах в атмосфере азота. Для определения аминокислотного состава белков отдельных белковых фракций использовали аминокислотный анализатор Hd 1200E [7].

## Результаты и их обсуждение

По происхождению изучаемые сорта пшеницы относятся к трем группам: местной селекции — Шарк и Севиндж; краснодарской — Кавказ; мексиканской — Овиачик 65, которые различаются по урожайности и содержанию белка в зерне (табл. 1).

Сорт Севиндж характеризуется наиболее высоким содержанием белка в зерне, а по урожайности он уступает остальным сор-

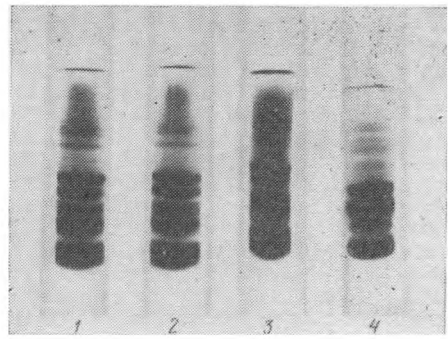


Рис. 1. Электрофоретические спектры глиадина у пшеницы разных сортов.

1 — Овиачик 65; 2 — Шарк; 3 — Севиндж; 4 — Кавказ.

там, поэтому сбор белка с единицы площади у него наименьший. У мексиканского сорта Овиачик 65 урожайность наибольшая (63,0 ц/га). Несмотря на то, что содержание белка в зерне этого сорта меньше, чем у высокобелкового сорта Севиндж (разница 1,4%), сбор белка на 3 ц/га больше благодаря высокой урожайности.

Электрофоретические исследования показали, что глиадины пшеницы разных сортов по составу и подвижности компонентов неодинаковы (рис. 1). Установлена специфичность электрофореграмм изученных сортов, что дает возможность идентифицировать каждый сорт.

В результате сравнительного изучения белкового спектра зерна определены компоненты, специфичные для одного сорта, и группы компонентов, характерные для всех изученных сортов. Например, у сортов Овиачик 65 и Шарк имеются  $\alpha$ - и  $\beta$ -компоненты, отсутствующие у других сортов.

Детальное исследование различных фракций, а также компонентов глиадиновых белков дает возможность выявить характер наследования отдельных компонентов

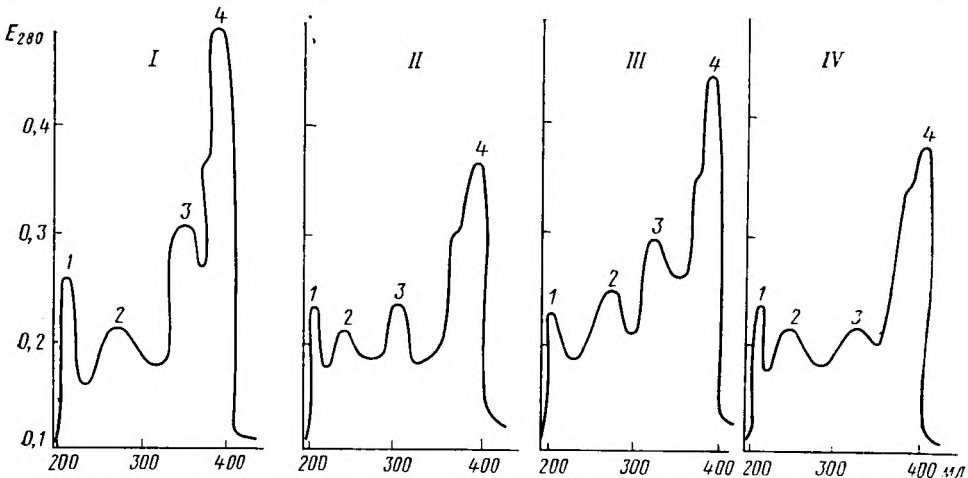


Рис. 2. Разделение глиадинов пшеницы на фракции (1—4) при гельфильтрации на сефадексе G-100.

I — сорт Кавказ; II — Севиндж; III — Шарк; IV — Овиачик 65.

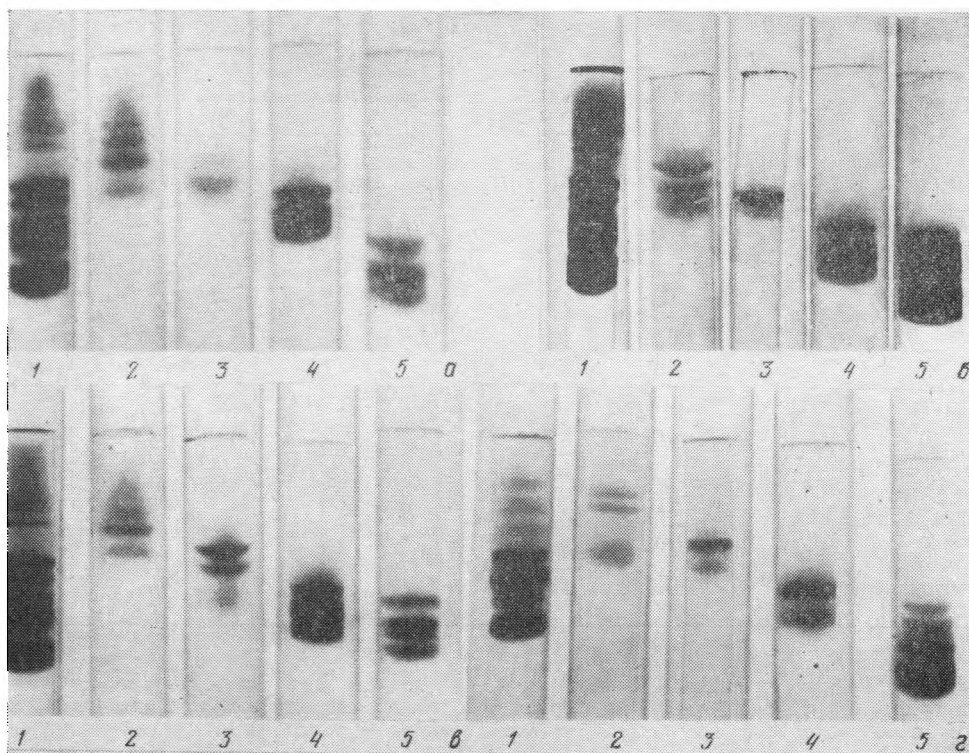


Рис. 3. Электрофоретические спектры фракций глиадинов сортов Овниачик 65 (а), Севиндж (б), Шарк (в) и Кавказ (г).

1 — суммарные глиадины; 2 — ω-фракция; 3 — γ-фракция; 4 — β-фракция; 5 — α-фракция.

при гибридизации. Поэтому мы разделили глиадиновые белки различных сортов с помощью сефадекса G-100 на отдельные фракции. В итоге получены 4 основные фракции (рис. 2). У всех сортов преобладала 4-я фракция. Содержание 3-й фракции

было наименьшим у сорта Овниачик 65. Высокмолекулярные глиадины (1-я и 2-я фракции) содержались в небольшом количестве. Профиль элюции глиадинов изученных сортов был очень сходным, исключение составил сорт Кавказ (рис. 2), у кото-

Таблица 2

**Аминокислотный состав глиадинов пшеницы сортов Кавказ и Шарк**  
(% от суммы аминокислот гидролизата)

Аминокислота	Кавказ				Шарк			
	фракция глиадинов							
	ω	γ	β	α	ω	γ	β	α
Лизин	0,3	0,4	0,6	0,9	0,2	0,5	0,8	0,8
Гистидин	0,8	1,5	1,8	1,9	1,0	1,2	0,9	1,2
Аргинин	0,9	1,6	1,7	1,8	1,2	1,0	1,7	1,9
Аспарагиновая	2,0	3,9	3,8	2,5	3,6	4,5	3,6	3,0
Треонин	1,6	2,0	1,8	2,6	2,6	1,1	1,7	1,8
Серин	5,2	4,7	4,8	4,7	4,1	4,9	4,6	4,9
Глютаминовая	45,7	41,1	38,2	36,7	42,8	40,8	38,2	36,8
Пролин	17,8	15,8	14,4	17,3	14,8	13,9	15,9	15,7
Глицин	1,9	1,7	1,8	2,3	2,6	2,1	2,5	2,8
Аланин	1,7	2,3	2,3	2,8	2,9	1,9	2,5	2,6
Валин	2,3	4,3	4,2	4,8	3,4	4,8	4,4	4,8
Метионин	Сл.	0,8	0,4	0,5	0,3	0,6	0,5	0,7
Изолейцин	8,8	4,2	5,4	3,9	4,3	5,6	5,0	4,8
Лейцин	4,9	7,6	10,9	8,4	4,1	8,2	8,9	8,8
Тирозин	2,3	3,2	3,6	3,0	2,5	3,7	3,1	3,7
Фенилаланин	9,8	4,9	4,3	5,9	9,6	5,2	5,7	5,7

Аминокислотный состав глиадинов пшеницы сортов Севиндж и Овчачик 65  
(% от суммы аминокислот гидролизата)

Аминокислота	Севиндж				Овчачик 65			
	фракция глиадинов							
	ω	γ	β	α	ω	γ	β	α
Лизин	0,2	0,7	0,5	0,6	0,2	0,3	1,0	0,9
Гистидин	0,6	1,8	1,9	1,6	1,0	0,4	1,6	1,4
Аргинин	0,9	2,0	1,5	1,8	1,2	0,8	2,4	2,8
Аспарагиновая	1,7	3,4	3,8	2,7	2,7	3,2	4,2	3,4
Треонин	0,9	1,5	1,5	1,6	2,9	2,4	3,2	2,5
Серин	3,0	4,4	5,3	4,8	3,9	5,6	5,9	5,1
Глютаминовая	46,5	43,5	38,0	38,2	38,9	35,8	31,0	33,2
Пролин	25,7	15,2	14,2	17,8	17,9	17,1	15,7	15,6
Глицин	1,1	2,5	2,5	2,2	1,4	1,9	3,7	2,8
Аланин	1,0	2,0	2,2	2,8	1,8	2,8	3,5	2,3
Валин	2,2	3,6	4,3	4,3	2,8	4,2	3,9	4,6
Метионин	Сл.	0,4	0,6	0,3	0,2	1,1	0,9	0,6
Изолейцин	3,2	4,3	3,8	3,9	5,2	6,7	7,7	6,7
Лейцин	3,4	6,9	9,9	8,6	6,9	8,9	8,2	9,6
Тирозин	1,2	3,5	3,1	3,3	2,8	2,6	2,2	3,6
Фенилаланин	8,4	4,3	6,9	5,5	10,2	6,2	4,9	4,9

рого 2-я фракция глиадинов существенно отличалась от таковой у других сортов. Это, вероятно, обусловлено генетическими особенностями сорта. Как было показано, мягкая пшеница в отличие от твердой имеет дополнительные компоненты глиадинов [14].

С помощью электрофоретического анализа нами был изучен компонентный состав отдельных фракций глиадинов. В 1-й фракции элюируются высокомолекулярные глиадины, которые при электрофорезе в 7,5 %-ном полиакриламидном геле в ацетатном буфере остаются на старте, поэтому нам не удалось получить электрофограммы данных фракций. Как утверждают исследователи [15], эти белки соответствуют низкомолекулярным глютелинам. Вероятно, указанные фракции глютелина прочно связаны с глиадинами, которые легко экстрагируются 70 %-ным спиртом. Во 2-м пике элюируются ω-глиадины, что подтверждается при электрофорезе (рис. 3). У всех изученных сортов 3-я фракция представляет собой γ-фракцию, в ней содержится меньше компонентов, чем у других фракций. 4-й пик соответствует двум фракциям, которые полностью не разделились: перегиб 4-й фракции — это β-фракция глиадинов, после перегиба следует α-фракция глиадинов (рис. 3).

Изученные сорта существенно различаются по аминокислотному составу глиадинов (табл. 2, 3). В составе ω-глиадинов высокобелкового сорта Севиндж суммарное содержание глютаминовой кислоты и пролина было более 70 % суммы всех аминокислот (табл. 3), у пшеницы Шарк и Овчачик 65 — около 50 %, а у сорта Кавказ — 63,5 % (табл. 2, 3). Белки этих фракций самые несбалансированные, так как содержат очень мало важнейших аминокислот. Во фракциях ω-глиадина незначительное содержание лизина, гистидина, метионина

и аргинина. В ω-глиадине пшеницы всех сортов, кроме Кавказа, содержание фенилаланина — около 10 %.

Содержание лейцина, изолейцина и серина в ω-фракции глиадинов изученных сортов изменялось от 3 до 6 %, остальных аминокислот от 1 до 3 %. Аминокислотный состав ω-фракции у высокобелкового сорта Севиндж иной, чем у других сортов. Как видно из данных табл. 3, содержание глютаминовой кислоты, пролина и фенилаланина составляло 80 % всего белка этой фракции, в остальных фракциях количество этих аминокислот значительно меньше.

В γ-фракции глиадинов пшеницы разных сортов содержание глютаминовой кислоты было на 3—4 % меньше, чем в ω-фракции, а содержание фенилаланина — почти в 2 раза. Вероятно, именно за счет этого увеличилось содержание некоторых других аминокислот. Например, в γ-фракции возросло количество аспарагиновой кислоты, валина и лейцина. В этой фракции по сравнению с ω-фракцией повысился уровень лизина и гистидина, но по количеству данных аминокислот обе фракции были на последнем месте. В ω-фракциях содержание лейцина колебалось от 4 до 6 % в зависимости от сорта пшеницы, но в γ-фракциях оно повысилось до 7—11 %.

По аминокислотному составу 4-я фракция глиадинов несколько отличается от других фракций и прежде всего высоким содержанием бистина [15, 22]. Поскольку гидролиз белка проводили в 6 н. HCl, нам не удалось определить эту аминокислоту. β- и α-фракции отличаются от ω- и γ-фракций глиадинов повышенным количеством валина, изолейцина и лейцина и меньшим глютаминовой кислоты, пролина и фенилаланина. По аминокислотному составу существенных различий между β- и α-фракциями не обнаружено.

## Заключение

Установлена специфичность электрофорограмм изученных сортов пшеницы (Кавказ, Шарк, Севиндж и Овиачик 65), что дает возможность идентифицировать каждый сорт.

Аминокислотный и компонентный составы фракций глиадинов у данных сортов резко различны.  $\omega$ -фракция глиадинов пшеницы всех сортов характеризуется высоким содержанием глутаминовой кислоты и про-

лина и очень незначительным — лизина, гистидина, аргинина и метионина. Аминокислотный состав глиадиновых фракций сортов Овиачик 65 и Шарк более сбалансирован, чем у других сортов, поэтому весьма целесообразно проведение селекционной работы с этими сортами.

Высокобелковые сорта пшеницы Севиндж и Кавказ отличаются наиболее высоким содержанием глутаминовой кислоты и пролина во всех глиадиновых фракциях.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас Азербайджанской ССР. М.: Наука, 1979. — 2. Детерман Г. Гельхромотография. М.: Мир, 1970. — 3. Конарев В. Г. Белки пшеницы. М.: Колос, 1980. — 4. Конарев В. Г., Гаврилюк И. П., Губарева Н. К. Белковые маркеры геномов пшениц и их диких сородичей. — Вест. с.-х. науки, 1970, № 8, с. 100—114. — 5. Конарев В. Г., Губарева Н. Г., Гаврилюк И. П., Бушук В. Идентификация генома *D* у пшениц по глиадину. — Вест. с.-х. наук. 1972, № 7, с. 108—114. — 6. Мауер Г. Диск-электрофорез. М.: Мир, 1971. — 7. Методы белкового и аминокислотного анализа растений. — Метод. указания. Л.: ВИР, 1973. — 8. Определение подлинности и сортовой чистоты семян пшеницы по электрофоретическому спектру глиадина. — Метод. указания и каталог сортовых формул. Л.: ВИР, 1975. — 9. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М., Колос, 1976. — 10. Попереля Ф. А., Созинов А. А. Биохимическая генетика глиадина и селекция пшеницы. — В кн.: Проблема повышения качества зерна, М.: Колос, 1977, с. 65—79. — 11. Созинов А. А., Попереля Ф. А. Полиморфизм глиадина и возможности его использования. — В кн.: Растительные белки и их биосинтез. М.: Наука, 1975, с. 65—77. — 12. Созинов А. А., Попереля Ф. А. Способ определе-

ния сортовой принадлежности или гомозиготности сортов и линий зерновых злаков. — Авторск. свид. 348182. — 13. Созинов А. А., Попереля Ф. А., Стаканова А. И. Внутрисортовой полиморфизм глиадина некоторых сортов пшеницы. — Докл. ВАСХНИЛ, 1973, № 6, с. 8—11. — 14. Сортовая идентификация твердой пшеницы по электрофоретическим спектрам глиадина. — Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 218. Л.: 1978. — 15. Bietz J. A., Wall J. S. — Cereal chemistry, 1972, vol. 49, p. 416. — 16. Boyd W. J., Lee J. W., Wrigley C. W. — Experientia, 1969, vol. 25, p. 317. — 17. Coulson C. B., Sim A. K. — Nature, 1964, vol. 202, p. 4939. — 18. Doekes G. J. — Euphytyko, 1973, vol. 1, p. 22. — 19. Hall O., Johnson B. L., Olered R. — Proc. Second. Internat. Weat. Genetics Symp. Sweden, 1963, p. 47. — 20. Hoseney R. S., Finey R. F., Pomeranz Y., Shogren M. D. — Cereal Chemistry, 1969, vol. 46, p. 495. — 21. Huebner F. R., Rottfus J. A. — Cereal chemistry, 1968, 1969, vol. 45, p. 242. — 22. Patey A. L., Waldron N. N. — J. Sci. Food Agric., 1976, vol. 27, p. 838. — 23. Solari R. M., Fawcett E. A. — Mutations in plant breeding. Viena, 1968.

*Статья поступила 9 февраля 1982 г.*

## SUMMARY

Fractional electrophoretic and aminoacid composition of gliadins of winter wheat varieties (Caucasus, Shark, Cevindge, Oviachik 65) differing in origin yielding capacity and protein content was studied by the method of gel-filtration on cefadex G-100 and electrophoresis in polyacrylamide gel. It was established that electrophoreograms of studied wheat varieties were specified which gave the possibility to identify each variety.

Aminoacid and component composition of gliadin fractions in given varieties are strictly different.  $\omega$ -gliadin fractions are characterised by high glutamic acid content and proline. The content of these aminoacids decreases in other fractions and the content of valine, isoleucine and leucine increases.