

УДК 582.542.11 (571.55)

Высокое содержание глютелинов в семенах реликтового злака *Melica turczaninowiana* (Poaceae)

Е.А. Бондаревич^а, С.В. Осипова^{б*}

^а ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия,
672090 Чита, ул. Горького, 39а

^б Учреждение Российской академии наук
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033 Иркутск, ул. Лермонтова 132, а/я 317¹

Received 3.12.2010, received in revised form 10.12.2010, accepted 17.12.2010

Изучено соотношение белковых фракций в семенах *Melica turczaninowiana* Ohwi, собранных в 2007 и 2008 гг. в разных ценопопуляциях Восточного Забайкалья. Обнаружено очень высокое относительное содержание глютелинов (80-90 % от суммы растворимых белков) и низкое (10-20 %) содержание водо-, соле- и спирторастворимых белков, что, по существующим представлениям, характерно для эволюционно примитивных растений и согласуется с мнением о реликтовом происхождении *M. turczaninowiana*. Полученные данные о вариабельности содержания проламинов в контрастных по влагообеспечению популяциях (7,9 % в засушливом местообитании, 3,3 % – в увлажненном) поддерживают гипотезу об адаптивной роли проламинов в семенах злаков.

Ключевые слова: глютелины, проламины, эволюция, адаптация.

Среди более 900 известных родов семейства Poaceae род *Melica* сравнительно немногочислен, в мировой флоре он представлен восьмьюдесятью видами, на территории Российской Федерации – одиннадцатью видами, а на территории Восточного Забайкалья – двумя видами – *Melica turczaninowiana* Ohwi и *Melica virgata* Turcz. ex Trin (Цвелев, 1976; 1987). Популяции этих видов, длительное время существующие изолированно, отличаются небольшими размерами и разделены обширными пространствами.

По мнению ряда исследователей (Авдулов, 1931; Цвелев, 1976; Семихов и др., 2006), триба Meliceae, наряду с Agudinariae, Dendrocalameae, Diarrheneae, Stipeae и Oryzeae, находилась у истоков возникновения семейства. Специалисты по флоре Восточной Сибири считают, что виды рода *Melica* относятся к реликтовым растениям, сохранившимся на территории региона с третичного периода, так как они представлены в составе сообществ с элементами древнесредиземноморской и неморальной флоры, приспособленной к усло-

* Corresponding author E-mail address: osipova@sifibr.irk.ru

¹ © Siberian Federal University. All rights reserved

виям более мягкого климата (Пешкова, 1972; Малышев, Пешкова, 1979; Семенова, 2007).

Melica turczaninowiana Ohwi – многолетнее рыхлодерновинное растение, имеет восточноазиатский ареал. Этот вид обитает на каменистых склонах и скалах, каменных россыпях, южных степных щебнистых склонах, в зарослях степных кустарников, заходит в леса (Цвелев, 1976) до среднего горного пояса (Растения Центральной Азии, 1968). *M. turczaninowiana* встречается в фитоценозах, эдификаторами которых являются реликтовые виды – *Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb., *Armeniaca sibirica* (L.) Lam., род *Ulmus*.

В соответствии с представлениями А.В. Благовещенского (1974, 1980), ценную информацию об эволюционной продвинутости и адаптивном потенциале вида и более крупных надвидовых таксонов можно извлечь из данных о соотношении в семенах белковых фракций по Осборну. Классификация белков семян по их растворимости, предложенная Т. Осборном в начале прошлого века, применяется до настоящего времени. По этой классификации белки семян делят на четыре группы – водорастворимые альбумины, солерастворимые глобулины, спирторастворимые проламины и глютелины, растворимые только в растворах кислот и щелочей (Osborn, 1907).

Эти взгляды получили развитие в работах В.Ф. Семихова (1980, 2006), который исследовал соотношение белковых фракций у большого числа родов семейства Poaceae. Глютелины присутствовали у всех представителей семейства, поэтому В.Ф. Семихов пришел к выводу, что в эволюционном плане они являются наиболее древними белками. Содержание спирторастворимых проламинов в белковом комплексе семян злаков варьировало в широких пределах – (от 1-3 до 67,5 % от суммарного белка семян). Самое низкое со-

держание проламинов было отмечено у видов, которые относились к вышеупомянутым трибам Meliceae, Agudinariae, Dendrocalameae, Diarrheneae, Stipeae и Oryzeae (Семихов и др., 2006; Семихов, 2006). Молодые в филогенетическом отношении роды характеризовались высоким содержанием низкомолекулярных белков: альбуминов, глобулинов и в особенности спирторастворимых проламинов, которым автор отводит особую роль в адаптации и распространении злаков на огромных пространствах планеты (Семихов, 1980, 2006).

В представленной работе изучено соотношение белковых фракций по Осборну в семенах *M. turczaninowiana* из различных ценопопуляций Восточного Забайкалья с целью выявить взаимосвязь между относительным содержанием белковых фракций, гипотетическим эволюционным возрастом *M. turczaninowiana*, и эколого-климатическими условиями местообитаний вида.

Материалы и методы

Материалом исследования служили семена *M. turczaninowiana*, собранные в 2007-2008 гг. на территории двух ботанико-географических районов Восточного Забайкалья – Даурии Ононской и Даурии Яблоновой (Флора Центральной Сибири, 1979; Флора Сибири, 1990). На территории Даурии Ононской семена *M. turczaninowiana* собирали в урочище «Ангаихата» (окр. с. Нарасун, Акшинский район, Забайкальский край), на территории Даурии Яблоновой – в урочищах «Ингода» и «Никишиха» (Читинский район Забайкальского края). В урочище «Никишиха» были выделены три ценопопуляции: «Никишиха-1», располагающаяся у основания склона, в зоне перехода смешанного леса в горную степь; «Никишиха-2» – в верхней части склона, в глубокой ложине, в осиново-березовом лесу; и «Никишиха-3», находящаяся в средней ча-

сти склона, на скалистом гранитном обнажении в зоне горной степи с небольшим количеством кустарников и деревьев.

Фракционирование белковых фракций по Осборну проводили по методикам, общепринятым для фракционирования белковых фракций из зерна пшеницы (Конарев, 1980; Труфанов, 1980). Семена размалывали на шаровой мельнице (КМ1, Россия) до 70 % выхода муки. Навеску муки обезжиривали и экстрагировали фракцию альбуминов и глобулинов трижды пятикратным объемом 50 мМ фосфатного буфера, pH 7.0 + 1 М NaCl. Глобулины осаждали в течение ночи при температуре 4° С диализом против воды. Проламины получали трехкратной экстракцией 72 %-м этиловым спиртом при комнатной температуре, фракцию глютелиновых белков – трехкратной экстракцией 0.1 N уксусной кислотой. Концентрацию белка определяли спектрофотометрическим методом (Hitachi U-1100, Япония) по Bradford (1976) с бычьим сывороточным альбумином в качестве стандарта. Все определения проводили в двух биологических и двух аналитических повторностях, статистическую обработку результатов делали в MS Excel.

Результаты и обсуждение

Из данных табл. 1 следует, что различия в суммарном содержании растворимых белков (сумма альбуминов, глобулинов,

проламинов и глютелинов) в семенах *Melica turczaninowiana* из разных популяций и ценопопуляций Восточного Забайкалья были обусловлены в основном различиями в содержании глютелиновых белков, так как абсолютное содержание глобулинов практически не варьировало, а содержание альбуминов и проламинов варьировало незначительно. Относительное содержание глютелинов в семенах *M. turczaninowiana* из разных популяций составляло от 80 до 90 % (табл. 2). Это значительно больше по сравнению с относительным содержанием глютелиновых белков у других ксерофитных злаков, распространенных в Восточном Забайкалье и других регионах страны. По данным Е.П. Якимовой (1999), изучавшей эколого-биологические особенности злаков в регионе, относительное содержание глютелинов в семенах *Agropyron cristatum* (L.) P.Beauv. составляло 31 %, в семенах *Festuca litvinovii* (Tzvel.) E.Alexeev и *Spodiopogon sibiricus* Trin. – 46 %. Содержание глютелинов в семенах *Poa pratensis* L. варьировало в зависимости от года репродукции и географического пункта произрастания от 21 до 30,7 %, в семенах *Festuca valesiaca* Gaudin – от 26 до 31,6 %, в семенах *Festuca pratensis* Huds. – от 29,2 до 37,8 % (Семихов и др., 2006).

Относительное содержание проламинов в семенах *M. turczaninowiana* из разных попу-

Таблица 1. Содержание суммы растворимых белков и белковых фракций в семенах *M. turczaninowiana* из различных ценопопуляций Восточного Забайкалья (мг/г сухой массы муки)

	Никишиха 1	Никишиха 2	Никишиха 3	Ингода	Ангаихата
Сумма растворимых белков	51.0 ± 0.8	39.3 ± 0.6	55.4 ± 0.6	69.2 ± 5.6	34.3 ± 2.2
Альбумины	3.0 ± 0.5	3.5 ± 0.3	3.1 ± 0.1	3.1 ± 0.6	3.1 ± 0.2
Глобулины	1.3 ± 0.4	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.4 ± 0.0	1.3 ± 0.0
Проламины	3.0 ± 1.1	2.2 ± 0.5	2.7 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.7 ± 0.1
Глютелины	43.5 ± 0.1	32.4 ± 0.9	48.4 ± 0.5	62.4 ± 5.1	27.2 ± 0.8

Таблица 2. Содержание белковых фракций в семенах *M. turczaninowiana* из различных ценопопуляций Восточного Забайкалья (% от суммы растворимых белков)

	Никишиха 1	Никишиха 2	Никишиха 3	Ингода	Ангаихата
Альбумины	5.9 ± 0.8	8.9 ± 0.7	5.6 ± 0.1	4.5 ± 0.5	9.0 ± 0.4
Глобулины	2.5 ± 0.7	3.0 ± 0.4	2.2 ± 0.2	2.0 ± 0.2	3.8 ± 0.1
Проламины	5.9 ± 0.4	5.5 ± 1.4	4.9 ± 0.1	3.3 ± 0.4	7.9 ± 0.2
Глутелины	85.3 ± 1.1	82.4 ± 1.0	87.4 ± 0.6	90.1 ± 0.1	79.2 ± 0.9

ляций и ценопопуляций колебалось от 3,3 до 7,9 % от суммы растворимых белков. Низкое содержание проламинов для трибы *Meliceae* было отмечено ранее, например, представители рода *Glyceria* трибы *Meliceae* содержали только 1,1-1,9 % проламинов (Семихов и др., 2006; Семихов, 2006).

Соотношение белковых фракций в семенах *M. turczaninowiana*, а именно низкое (10-20 %) содержание водо-, соле- и спирто-растворимых белков, и очень высокое (до 80-90 %) содержание труднорастворимых глютелинов, в соответствии с представлениями А.В. Благовещенского (1974), свидетельствует о биохимической примитивности и древности вида и хорошо согласуется с существующим мнением (Семенова, 2007) о реликтовом происхождении *M. turczaninowiana*.

Оценка различий в относительном содержании белковых фракций в семенах из разных ценопопуляций (табл. 3) выявила своеобразие семян из урочища “Ангаихата”. Семена *M. turczaninowiana* из этой ценопопуляции имели по сравнению с семенами из других ценопопуляций самое низкое суммарное содержание растворимых белков и глютелина и самое большое относительное содержание низкомолекулярных белков: альбуминов, глобулинов и особенно проламинов. По сравнению с другими территория урочища “Ангаихата”, располагающаяся в зоне горных степей Даурии Ононской, более южная, характеризуется меньшим количе-

ством осадков и крайней неравномерностью их выпадения по сезонам и годам. Наибольшие различия в содержании суммарного белка и относительном содержании отдельных белковых фракций наблюдали в семенах из урочищ “Ангаихата” и “Ингода” (табл.1-3). Место сбора семян в ценопопуляции “Ингода”, по контрасту с ценопопуляцией “Ангаихата”, отличалось затененностью и высокой влажностью почвы. В семенах из ценопопуляции “Ингода” было обнаружено наибольшее количество суммарного растворимого белка, наибольшее относительное содержание глютелинов (90 %) и самое низкое относительное содержание проламинов (3,3 % по сравнению с 7,9 % в семенах из ценопопуляции “Ангаихата”) (табл. 2). Вероятно, наблюдаемые нами различия в соотношении белковых фракций в семенах, собранных в контрастных по влагообеспечению популяциях, связаны с адаптивной ролью проламинов в засушливых условиях произрастания *M. turczaninowiana*. Имеющиеся различия в относительном содержании белковых фракций в семенах из разных ценопопуляций урочища “Никишиха”, вероятно, связаны с различиями микроклимата на разных уровнях горного склона.

Специфическую адаптивную функцию проламинов объясняют тем, что в отличие от глютелинов они имеют только внутримолекулярные дисульфидные связи, легко гидролизуются при прорастании и содержат в

Таблица 3. Критерии Стъюдента (t) и оценка достоверности различий в содержании суммы растворимых белков и белковых фракций (мг/г сухой массы) в семенах *M. turczaninowiana* из различных ценопопуляций Восточного Забайкалья

	Никишиха 1	Никишиха 2	Никишиха 3	Ингода
Сумма белков				
Никишиха 2	11.6**			
Никишиха 3	4.6*	20.9**		
Ингода	4.2*	5.3*	2.4	
Ангаихата	6.5*	1.5	8.9**	5.5*
Альбумины				
Никишиха 2	2.8			
Никишиха 3	1.1	4.3*		
Ингода	1.4	5.0*	2.4	
Ангаихата	3.5*	0.3	7.7**	7.0**
Глобулины				
Никишиха 2	0.6			
Никишиха 3	0.5	1.8		
Ингода	0.7	2.1	0.6	
Ангаихата	2.0	2.2	8.7**	7.5**
Проламины				
Никишиха 2	0.2			
Никишиха 3	2.7	0.5		
Ингода	5.0*	1.5	3.8*	
Ангаихата	5.9*	1.8	15.5**	3.8*
Глутелины				
Никишиха 2	2.2			
Никишиха 3	0.6	4.8*		
Ингода	4.0*	7.9**	6.6*	
Ангаихата	4.6*	2.5	7.1**	12.7**

Жирным шрифтом и звездочками обозначены t-критерии, превышающие критические значения.
* – $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

большом количестве наиболее важные для развития и адаптации проростка глутаминовую кислоту и пролин (Семихов, 2006; Семихов и др., 2006).

А.С. Тимощенко и соавторы (2009) показали взаимосвязь между содержанием проламинов в семенах сортов яровой пшеницы разной экологической приуроченности и их гибридов и энергией прорастания семян. У сорта яровой пшеницы Акмолинка 1, адаптированного к более суровым природно-климатическим условиям, раньше начинался и активнее протекал процесс биосинтеза проламинов, а относительное содержание проламинов было в 1,5 раза выше, чем у сорта Саратовская 29. А.С. Тимощенко и соавторы (2009) пришли к выводу, что процесс адаптации однолетних злаков к более суровым климатическим условиям осуществляется в основном путем внутривидовой гибридизации. Вероятно, это верно и в отношении многолетних

злаков, таких как *M. turczaninowiana*, произрастающих в естественных фитоценозах.

Характерное для семян *M. turczaninowiana* соотношение белковых фракций, низкое (10-20 %) содержание водо-, соле- и спирторастворимых белков и очень высокое (до 80-90 %) содержание труднорастворимых глютелинов, предположительно связано с биохимической примитивностью и древностью вида и хорошо согласуется с существующим мнением о реликтовом происхождении *M. turczaninowiana*. Полученные данные о значительных различиях в относительном содержании проламинов в семенах *M. turczaninowiana* из контрастных по влагообеспечению популяций, поддерживают гипотезу В.Ф. Семихова об адаптивной роли проламинов, поскольку проламины имеют высокое содержание глутамина и пролина, физиологически очень важных для проростка аминокислот.

Список литературы

- Благовещенский А.В., Александрова Е.Г. (1974) Белковые комплексы семян эволюционно примитивных и продвинутых растений. В: Проблемы филогении высших растений. М.: Наука, 7-15 с.
- Бондаревич Е.А. (2009) Эколого-биохимические особенности *Melica turczaninowiana* Ohwi (Poaceae) в Восточном Забайкалье: Автореф. дис....канд. биол. наук. Улан-Удэ. 18 с.
- Конарев В.Г. (1980) Белки пшеницы. М.: Колос, 351 с.
- Малышев Л.И., Пешкова Г.А. (1984) Особенности и генезис флоры Сибири (Предбайкалье и Забайкалье). Новосибирск: Наука, 265 с.
- Пешкова Г.А. (1972) Степная флора Байкальской Сибири. М.: Наука, 207 с.
- Растения Центральной Азии (по материалам Ботанического института им. В.Л. Комарова) (1968) ред. Н.Н. Цвелев. Вып. 4. Злаки. Л.: Наука, 123 с.
- Семенова Г.П. (2007) Редкие и исчезающие виды флоры Сибири: биология, охрана. Новосибирск: Принтинг, 399 с.
- Семихов В.Ф. (1980) Роль проламинов в эволюции злаков. Бот. журн. 12: 1766-1771
- Семихов В.Ф. (2006) Спирторастворимые белки семян, их адаптивная роль в эволюции и распространении растений. Сиб. Экол. журн. 6: 809-824
- Семихов В.Ф., Тимощенко А.С., Арефьева Л.П., Новожилова О.А., Прусаков А.Н., Харченко П.Н. (2006) Адаптивный потенциал злаков в интродукции растений. Пушино: ОНТИ ПНЦ РАН

Тимощенко А.С., Семихов В.Ф., Харченко П.Н. (2009) Возможность адаптации однолетних злаков (на примере яровой пшеницы) к неоптимальным условиям произрастания. Доклады РАСХН. 1:8-10

Труфанов В.А. (1994) Клейковина пшеницы: проблемы качества. Новосибирск: Наука, 165 с.

Флора Центральной Сибири (1979). Под ред. Л.И.Мальшева, Г.А.Пешковой. Т.1. Новосибирск: Наука, 536 с.

Флора Сибири: Роасеае (Gramineae) (1990) Под ред. Г.А.Пешковой, О.Д.Никифоровой, М.Н.Ломоносова и др. Т.2. Новосибирск: Наука, 361 с.

Цвелев Н.Н. (1976) Злаки СССР. Л.: Наука, с. 5-61, 547-556

Цвелев Н.Н. (1987) Систематика злаков (Роасеае) и их эволюция. Л.: Наука, 75 с.

Якимова Е.П. (1999) Эколого-физиологические особенности адаптации ксерофитных злаков Забайкалья к среде обитания: Автореф. дис.... канд. биол. наук. 21 с.

Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 72: 248–254

Osborn T.B. (1907) The proteins of the wheat-kernel. Carnegie Institution of Washington. P. 119.

High Contents of Glutelins in Seeds of Relic *Melica Turczaninowiana* (Poaceae)

Eugeniy A. Bondarevich^a and Svetlana V. Osipova^b

^a *Chita Medical State Academy,*

39a Chita, Gor'ky st., 672090 Russia

^b *Siberian Institute of Plant Physiology*

and Biochemistry of Siberian Branch of RAS,

132 Lermontova st., p.b. 317, Irkutsk, 664033 Russia

*The study was focused on the content of protein fractions of *Melica turczaninowiana* Ohwi (Poaceae) seeds collected in 2007 and 2008 in various cenopopulations of Eastern Zabaikal'ye. *M. turczaninowiana* seeds are characterized by very high content of glutelins, up to 80-90 % in different populations. That it is much more in comparison with relative glutelins content in other xerophytes crops growing in the region and can be connected with relic origin of the species. Seeds from the cenopopulations contrasted by moisturizing conditions differed in prolamine content by two times. In the seeds from humid stow "Ingoda" prolamine content amounted to 3.3 %, whereas the seeds from droughty stow "Angaikhata" it equaled 7.9 %. These data confirm the hypothesis on adaptive role of prolamines in crops.*

Keywords: glutelins, prolamines, evolution, adaptation.
