

АДАМОВСКАЯ В.Г., МОЛОДЧЕНКОВА О.О., СИЧКАРЬ В.И., КАРТУЗОВА Т.В.,
БЕЗКРОВНАЯ Л.Я., ЛАВРОВА Г.Д.

Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения
НААНУ

Украина, 65036, м. Одесса, вул. Овидиопольская дорога, 3, e-mail: olgamolod@ukr.net

ХАРАКТЕР НАСЛЕДОВАНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ 7S И 11S ГЛОБУЛИНОВЫХ БЕЛКОВ У ГИБРИДОВ F₃ СЕМЯН СОИ

Соя является основным источником растительного белка и аминокислот в питании человека и животных в мире. На мировом рынке она считается стратегической культурой XXI века и передовые страны Европы, Азии и Америки, используя совершенные технологии выделения и очистки ее белков, используют их для производства продуктов питания. Установлено, что наиболее перспективными белками для производства соепродуктов являются глобулины, а именно 7S (β -конглицинин) и 11S (глицинин) глобулиновые фракции [1]. Содержание 7S и 11S фракций глобулиновых белков семян сои, по литературным данным, колеблется для 7S глобулинов в интервале 18,8–28,8 %, а для 11S глобулинов – от 30,8 до 39,9 %, при этом соотношение 11S:7S фракций составляет 1,1:1,8 [2]. 11S и 7S глобулины являются высокомолекулярными белками с четвертичной структурой и неодинаково сбалансированы по аминокислотному составу. От соотношения этих фракций зависят функциональные свойства этих белков и как следствие, – качество соепродуктов и их технологические свойства [3]. Показано, что синтез субъединиц 11S глобулина кодируется семейством генов, созданы кДНК для 5 из них: Gy1, Gy2, Gy3, Gy4 та Gy5 [4]. Описано три гена, кодирующие синтез субъединиц 7S глобулина сои [5]. Признак белковистости семян имеет сложную генетическую и морфогенетическую природу, поэтому для ведения целенаправленной селекции сои продовольственного направления необходимо учитывать закономерности наследования суммарного содержания 7S и 11S глобулиновых белков и влияние исходных форм на характер наследования этих показателей в гибридных комбинациях. Исходя из этого, целью наших исследований было изучение количественного содержания 7S и 11S глобулинов и характер наследования этих показателей у гибридов F₃, созданных на основе родительских

форм сои разного генетического происхождения.

Исследования проводились на 5 гибридных комбинациях (растения F₂семена F₃) сои (*Glicine max. L.*) (Аметист х Ольса, Куйбышевская 77 х Апполон, Паркер х Устя, Вилана х Степовичка 4, (Юрьевка х Изумрудная)х Вилана) и их родительских формах (Аметист, Ольса, Куйбышевская 77, Апполон, Паркер, Устя, Вилана, Степовичка 4, Юрьевка х Изумрудная). Материал был предоставлен отделом селекции, генетики и семеноводства зернобобовых культур СГИ-НЦНС.

В лабораторных исследованиях использовались стандартные для Украины и модифицированные в нашей лаборатории методы биохимического анализа. Содержание белка определяли методом Къельдаля на анализаторе Kejltec Auto 1030, выделение 7S и 11S глобулинов сои проводили методом, разработанным в лаборатории [6], а идентификацию этих белков – методом SDS электрофореза в 15 % ПАГ с использованием прибора фирмы Нем-Hoff. В качестве маркеров молекулярной массы использовали следующую белковую смесь: 97 кДа – фосфоорилаза В, 67 кДа – бычий сывороточный альбумин, 43 кДа – альбумин яичный, 30 кД – карбоангидраза, 20 кДа – ингибитор трипсина, 14,4 кДа – лактальбумин. Степень доминирования определяли методом Гриффинга [7]. Статистическая обработка данных проведена по общепринятым методам с использованием стандартных программ математического обеспечения.

Как видно из таблицы 1, у 4-х гибридных комбинаций отмечалось доминирование более низкобелкового родителя ($h \leq 1$) и при этом коэффициент доминирования у изучаемых гибридных комбинаций колебался от -0,56 до -4,2, и только у гибридной комбинации (Юрьевка х Изумрудная)хВилана содержание белка было выше, чем у обоих родительских форм.

Таблица 1. Содержание белка у гибридов F₃ и их родительских форм семян сои (% на абс. сух. в-во)

№	Название образца	♀	♂	Гибриды	Коэффициент доминирования h _p
1	Аметист × Ольса	40,7	42,4	40,6	-1,0
2	Апполон × Куйбышевская 77	38,6	42,8	39,5	-0,56
3	Вилана × Степовичка 4	38,7	39,4	39,1	-4,2
4	Паркер × Устя	37,1	41,7	37,8	-0,69
5	(Юрьевка × Изумрудная) × Вилана	38,7	40,5	40,7	+1,18

Проведенный анализ содержания 7S глобулиновых белков у гибридов F₃ у которых при отборе в F₂ был заложен принцип высокобелковистости родительских форм, показал, что амплитуда колебания по содержанию этих белков

у гибридных комбинаций находилась в интервале от 27,2 до 35,7 %, а у родительских форм содержание 7S глобулинов в семенах колебалось в интервале от 19,7 до 37,8 % (табл. 2).

Таблица 2. Содержание 7S глобулинов в семенах гибридов F₃ и их родительских форм семян сои (% на абс. сух. в-во)

№	Название образца	♀	♂	Гибриды	Коэффициент доминирования h _p
1	Аметист × Ольса	28,2	19,7	26,9	+0,69
2	Апполон × Куйбышевская 77	25,7	37,8	32,9	+0,28
3	Вилана × Степовичка 4	25,8	26,8	27,2	+1,8
4	Паркер × Устя	28,0	32,8	30,4	+0,076
5	(Юрьевка × Изумрудная) × Вилана	28,4	31,2	35,7	+2,1

Анализ характера наследования 7S глобулиновых белков семян сои позволил отметить следующее: из 5-ти гибридных комбинаций, взятых в изучение, у двух отмечался эффект доминирования лучшего родителя (Вилана × (Юрьевка × Изумрудная) – h_p +2,1), Вилана × Степовичка 4 – h_p+1,8). Как видно из таблицы 2, этот тип наследования проявлялся у гибридов F₃, родительские формы которых по данному признаку различались незначительно. У остальных гибридных комбинаций наблюдался промежуточный тип наследования 7S глобулинов с отклонением в сторону родительских форм с большим содержанием этих белков (h_p от +0,076 до +0,69). По литературным данным, сорта с высоким содержанием белка, как правило, характеризуются высоким содержанием 7S фракции глобулиновых белков [8]. По результатам нашего эксперимента, повышенным содержанием 7S глобулинов характеризовались гибридные комбинации, у которых отцовские формы имели более высокое содержание суммарного белка, по сравнению с материнскими формами (исключе-

нием является гибридная комбинация Аметист × Ольса). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о возможности отбора форм с заданным содержанием 7S глобулиновых белков.

Содержание 11S глобулиновых белков у изучаемых гибридных комбинаций было ниже, чем у обоих родительских форм, используемых в скрещиваниях (табл. 3). Так, из 5 отобранных в скрещиваниях гибридных комбинаций, только у гибридной комбинации Аметист × Ольса отмечался положительный эффект по содержанию 11S глобулинов (h_p+2,0), а у остальных гибридных комбинаций содержание этих белков в зерне наследуется по типу родительских форм с низким содержанием 11S глобулинов (h_p от -0,25 до -2,3).

Резюмируя полученные результаты, можно отметить следующее: приведенные выше результаты согласуются с ранее полученными нами данными о том, что сорта отечественной селекции характеризуются, как правило, высоким содержанием 11S глобулинов, однако в процессе

Таблица 3. Содержание 11S глобулинов в семенах гибридов F₃ и их родительских форм семян сои (% на абс. сух. в-во)

№	Гибриды	♀	♂	F ₃	Соотношение 11S : 7S			Коэффициент доминирования h _p
					♀	♂	F ₃	
1	Аметист × Ольса	30,0	34,5	36,8	1,1	1,75	1,4	+2,0
2	Апполон × Куйбышевская 77	33,8	30,2	28,8	1,3	0,80	0,87	-2,2
3	Вилана × Степовичка 4	31,6	33,1	30,0	1,2	1,1	1,1	-2,3
4	Паркер × Устя	32,9	30,5	31,4	1,2	0,93	1,03	-0,25
5	(Юрьевка × Изумрудная) × Вилана	30,8	32,2	28,4	1,1	1,03	0,79	-2,2

отбора можно выделить формы с заданным высоким содержанием 7S глобулинов. У зернобобовых культур важным показателем их питательной ценности является соотношение 11S:7S глобулиновых фракций, так как 7S глобулины содержат меньше незаменимых серосодержащих

аминокислот. Как видно из таблицы 3, у родительских форм и гибридов, созданных на их основе, этот показатель находится в интервале от 0,75 до 1,75, что свидетельствует о возможности отбора биотипов сои, сбалансированных по аминокислотному составу этих фракций.

Литература

1. Клименко В.Г. Белки семян бобовых растений / В.Г. Клименко. – Кишинев: Штиинца, 1978. – 248 с.
2. Сичкар В.И. Варьирование количества белка и аминокислотного состава у сои // Физиология и биохимия культ. растений. – 1992. – Т. 24. – С. 153–158.
3. Алексеенко А.Ю., Николаев И.В., Винецкий Ю.П. Характер вариабельности запасного белка 11S глобулина сои // Сельскохозяйственная биология. – 1987. – № 2. – С. 13–18.
4. Cho T.J., Davies C.S., Nielsen N.C. Inheritance and organization of glycinin genes in soybean // Plant Cell. – 1989. – V. 1 (3). – P. 329–337.
5. Watanade Y., Hirano H. Nucleotide sequence of the basic 7S globulin gene from soybean // Plant Physiol. – 1994. – V. 105 (3). – P. 1019–1020.
6. Пат. 42181 Спосіб добору сої / Адамовська В.Г., Молодченкова О.О., Січкач В.І., Цісельська Л.Й., Сагайдак Т.В. Патент на корисну модель № 42181. 25.06.2009 р.
7. Griffing B. Concepts of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems // Austral. J. Biol. Sci. – 1956. – № 9. – P. 463–493.
8. Бограчева Т.Я., Беспалова Н.Ю., Леонтьев А.Л. Выделение 7S и 11S глобулинов семян Glycine max // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – Т. 32, №4. – С. 473–477.

ADAMOVSKAYA V.G., MOLODCHENKOVA O.O., SICHKAR V.I., KARTUZOVA T.V., BEZKROVNAYA L.Y., LAVROVA G.D

*Plant Breeding & Genetic Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation
Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopol'skaya doroga str., 3, e-mail: olgamolod@ukr.net*

CHARACTER OF INHERITANCE OF 7S AND 11S GLOBULINS CONTENTS AT THE F₃ HYBRIDS OF SOYBEEN SEED

Aims. The major components of soybean seed proteins are 11S globulin (glycinin) and 7S globulin (β-conglycinin), which are storage proteins that account for 70 % of the total seed protein. For estimation the biotypes of soybean, excelling initial varieties for protein's quality, the contents and 11S globulins/7S globulins ratio, the character of inheritance of 11S globulins and 7S globulins contents at the F₃ hybrids of soybean seed were studied. **Methods.** Contents of protein were measured according to the Kjeldahl method. 7S and 11S globulins were separated by method, which was developed in the Laboratory of Plant Biochemistry (Patent # 42181). **Results.** It was established, that contents of 11S globulins at the F₃ hybrids is mainly inher-

ited on the type of prevailing of parent with low contents of 11S globulins (h_p from -0,25 to -2,3), and 7S globulins – on the intermediate type of inheritance with deviation to parent with best on contents of 7S globulins (h_p from +0,076 to +0,69). Nevertheless, among the studied hybrid combinations there are hybrids, where the effect of prevailing of the best parent on the contents of these indexes is marked (h_p from +2,0 to +2,1). **Conclusions.** The got results testify that contents of 7S and 11S globulins in the soybean seed at the F_3 hybrids is controlled by the difficult genetic system with the different type of genes action and cooperation. **Key words:** *Glicine max.* L., 11S globulin (glicinin), 7S globulin (β -conglycinin).

БАЄР Г.Я.¹, ПІРКО Я.В.¹, СТАДНІЧУК Н.О.², РАХМЕТОВ Д.Б.², ЄМЕЦЬ А.І.¹, БЛЮМ Я.Б.¹

¹ Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України
Україна, 04123, Київ, вул. Осиповського, 2А, e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

² Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України
Україна, 01014, Київ, вул. Тимірязєвська, 1

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ ГЕНОТИПІВ *ELEUSINE CORACANA* (L.) GAERTN. ТА *ELEUSINE INDICA* (L.) GAERTN. ЗА ДОПОМОГОЮ ISSR-АНАЛІЗУ

Завдяки досягненням молекулярної генетики та геноміки зроблено вагомий внесок у розвиток біології, відкрито широкі можливості для використання новітніх технологій в практиці сільського господарства. Одним із сучасних напрямків у вирішенні теоретичних і практичних проблем селекції є добір рослин за допомогою генетичних маркерів (Marker Assisted Selection, MAS), який дозволяє на якісно новому рівні здійснювати селекційний процес, оскільки поглиблюються знання про генетичну природу ознаки, локалізацію відповідного гена або генів на певній хромосомі. Протягом тривалого часу об'єктом молекулярно-генетичних досліджень було обмежене коло видів рослин. Розвиток технології дослідження ДНК значно розширив спектр сільськогосподарських культур – об'єктів геномних досліджень. Незважаючи на те, що пальчасте просо (*Eleusine coracana*) займає третє місце після сорго та проса серед злакових культур, які культивуються на малородючих і посушливих ґрунтах, на сьогоднішній день є всього декілька робіт, де за допомогою молекулярних

маркерів охарактеризовано генетичну різноманітність цього виду [13, 10, 8, 14, 11].

У результаті раніше проведених досліджень нами були отримані соматоклональні варіанти пальчастого проса, які містять підвищену кількість вуглеводів, характеризуються підвищеним приростом біомаси та ранніми строками дозрівання, а також високою врожайністю насіння. Один з цих соматоклонів став джерелом для створення високопродуктивного сорту пальчастого проса Ярослав-8. Відомо, що *E. coracana* є тетраплоїдом ($2n=4x=36$) та за морфологічними ознаками подібний до *E. indica* ($2n=18$) та *E. africana* ($2n=36$). Проведений цитологічний аналіз засвідчив, що *E. indica* є донором одного з геномів (AA) для культурного виду *E. coracana* (AABB) [9]. Тому оцінка філогенетичних взаємовідносин між *E. coracana* та *E. indica*, а також генетичного поліморфізму за допомогою молекулярно-генетичних маркерів залишається одним із пріоритетних та актуальних завдань сьогодення.

Матеріали і методи

У роботі використовували два сорти *E. coracana*, отримані методами класичної селекції (Тропіканка і Євгенія) [6], три соматоклони *E. coracana* (SE-7 (сорт Ярослав-8), SE-1, SE-4) [3, 1], які було отримано від сорту Тропіканка, та три генотипи *E. indica*, два з яких (*E. indica* CAL 4A-21, *E. indica* CAL 4A-1) є стійкими до дії динітроанілінових гербіцидів і були любязно надані професором У.В. Баярдом (Мічиганський Університет, США).

ДНК виділяли із свіжого листя за допомо-

гою ЦТАБ-методу [7]. Якість отриманої ДНК перевіряли за допомогою електрофорезу в 1,5 %-ному агарозному гелі, а також спектрофотометрично на біофотометрі «Eppendorf» з визначенням її концентрації. Для аналізу використовували 3 олігонуклеотидні праймери до мікросателітних послідовностей з двома селективними нуклеотидами на 3'-кінці та один праймер без них (табл. 1). Праймери було синтезовано на приладі AB 3400 DNA Synthesizer з наступною доочисткою (ЦККП «Гентест», Інститут харчо-