

МАХНО Ю.А.¹, ПОЛЯКОВА И.А., ЛЯХ В.А.

*¹Институт масличных культур Украинской академии аграрных наук
Украина, 7041, Запорожье, пос. Солнечный, ул. Весенняя, 1,*

e-mail: makhnjulija@rambler.ru

*Запорожский национальный университет Украина, Запорожье,
ул. Жуковского, 66*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ СЕМЯН ЛЬНА МАСЛИЧНОГО МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Одним из важнейших путей получения информации о генотипе растений является исследование полиморфизма белков. Для характеристики сортов все чаще применяют электрофоретический анализ различных фракций белков семян. Это дает возможность по спектру компонентов полиморфного белка различать генотипы и идентифицировать сорта, биотипы и линии [2].

Изучение запасных белков льна проводилось в разных научных центрах [1, 3, 4]. Кутузовой С.Н. [1] удалось выделить и электрофоретически разделить в диссоциирующих условиях запасные белки из семян льна. При этом были получены три зоны компонентов. С помощью стандартных наборов метчиков молекулярных масс был установлен вес и подвижность компонентов, которые во II и III зоне соответствовали кислым и основным легиминоподобным белкам. Компоненты, оставшиеся в I зоне, принадлежали белкам не глобулиновой, а альбуминовой природы. Недостатком данного метода является невозможность его использования для идентификации коммерческих сортов из-за их генетической близости.

Лапина Г.П. [3], изучая электрофоретические спектры суммарного белка разных сортов льна, выделила общую и сортоспецифическую фракцию. Юренкова С.И. и др. в своей работе [4] изучали генетику ряда ферментов. Однако работ по изучению белковых маркеров льна проводилось крайне мало и недостаток информации в данном направлении определил цели нашей работы по изучению гетерогенности отдельных фракций запасных белков семян льна и возможности идентификации сортов льна масличного с помощью электрофореза.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили семена коллекции лаборатории селекции льна Института масличных культур УААН. Нами была разработана методика для электрофоретического разделения запасных белков льна масличного в кислом полиакриламидном геле концентрацией 11,8% (методика зарегистрирована как полезная модель №27671 от 12.11.2007). Анализу подвергались белки из индивидуальных семян. Электрофорез проводили в одинаковых условиях. Электрофореграммы снимали в трех повторах для каждого варианта опыта. Полученные белковые фракции, обнаруженные на электрофореграммах, характеризовались величиной относительной электрофоретической подвижности (ОЭП), рассчитанной по отношению к по-

движности раствора утяжелителя. Сравнение проводили с сортом-стандартом и между собой.

Результаты и обсуждение

При электрофоретическом разделении запасных белков из семян льна наблюдается распределение пептидов на зоны, обозначенные нами как I, II, III, IV, V в порядке увеличения электрофоретической подвижности. Аналогичная классификация была использована в спектрах вики посевной, где авторы выделили четыре основные по интенсивности зоны компонентов. Выделение отдельных зон полипептидов было использовано и в изучении электрофоретических спектров белков кормовых бобов, где было выделено шесть полипептидных зон [2].

В наших исследованиях отдельные пептиды в зонах мы обозначили как белковые полосы или белковые компоненты. Для записи электрофоретического спектра белка многие авторы используют сквозную нумерацию компонентов (преимущественно от старта). Данная нумерация допускается для белков еще слабо изученных или если распределение компонентов в спектре не отражает их дифференциацию по биохимическим признакам и организации генетического контроля [2]. Для удобства понимания распределения белковых компонентов льна мы также использовали сквозную нумерацию белковых полос в порядке увеличения электрофоретической подвижности компонентов: 1, 2, 3–12.

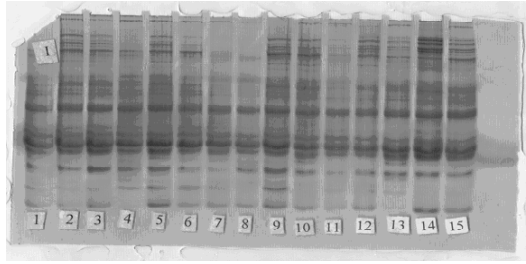
Сравнение полученных электрофоретических спектров запасного белка льна проводили с сортом-стандартом и между собой, как и указано в методике. Вместе с исследуемыми образцами постоянно разгонялся образец сорта-стандарта (Пивденна нич). Его электрофоретический спектр в каждом варианте служил контролем.

Принято считать, что сортовой признак в электрофоретическом спектре — плотность полос, отражающая количество белкового компонента в них [2]. В нашей работе мы также использовали данную особенность интенсивности проявления полос и отмечали их как более интенсивные чертой снизу, и менее — чертой сверху (таблица).

Сравнивая между собой спектры селекционных образцов и сортов разных селекционных центров (рис., табл.), можно отметить, что зоны I, II, III, характерны для всех генотипов. Белковые полосы в данных зонах похожи, они имеют одинаковую подвижность и интенсивность. Вероятно, данная особенность распределения белков в предложенных зонах характерна для рода *Linum*.

Среди сортов разных селекционных центров I зона чаще всего представлена двумя белковыми полосами, изредка одной. Также дополнительная полоса появляется во II зоне, по которой отдельные образцы отличаются друг от друга. Белки в данной зоне окрашены в фиолетово-голубой цвет и идентифицируются нами как зона IIIa.

К варибельным (изменчивым) участкам можно отнести зоны IV–V. Исследуемый материал по данным зонам характеризовался по их “присут-



- | | | |
|-----------------|-------------|-------------|
| 1. Південна ніч | 7. 20082 | 12. Ручеек |
| 2. Айсберг | 8. 20073 | 13. Байкал |
| 3. Золотистый | 9. Авангард | 14. Славный |
| 4. Орфей | 10. Лирина | 15. Антарес |
| 5. 20034 | 11. Циан | |
| 6. 20098 | | |

Рис. Электрофоретические спектры запасных белков сортов и селекционных образцов льна масличного

Таблица

Компонентный состав сортов и селекционных образцов запасных белков семян льна масличного

Зоны	№ п/п	Пивденна ніч	Айсберг	Орфей	Золотистый	Циан	Байкал	20034	20098	20073	20082
I	1	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,21	0,22	0,22	0,22
	2	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,23	0,22	0,23	0,23	0,23
Ia	3	-	-	-	-	0,26	-	-	0,26	0,27	0,27
II	4	0,27	0,28	0,27	0,27	0,27	0,28	0,27	0,29	<u>0,29</u>	0,29
	5	<u>0,30</u>	<u>0,30</u>	<u>0,30</u>	<u>0,30</u>	<u>0,30</u>	<u>0,30</u>	<u>0,30</u>	<u>0,30</u>	<u>0,30</u>	<u>0,30</u>
	6	0,32	<u>0,32</u>	0,32	<u>0,33</u>	<u>0,32</u>	<u>0,32</u>	<u>0,32</u>	<u>0,32</u>	<u>0,32</u>	<u>0,32</u>
IIa	7	-	-	-	-	-	<u>0,34</u>	0,34	0,34	0,35	0,35
III	8	<u>0,36</u>	0,36	0,36	<u>0,36</u>	<u>0,36</u>	<u>0,36</u>	0,36;	0,36	-	<u>0,36</u>
	9	-	-	-	-	-	0,37	0,37	0,37	0,37	-
IV	10	0,41	0,41	0,41	-	<u>0,41</u>	0,41	0,41	0,42	-	0,41
	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V	12	0,46	-	-	<u>0,46</u>	<u>0,46</u>	-	<u>0,46</u>	0,45	0,46	0,47

ствию-отсутствию” в спектрах, подвижности и интенсивности проявления данных белковых компонентов.

В целом по электрофоретическим спектрам исследуемые генотипы различаются, хотя некоторые из них имеют близкие электрофореграммы. Так, при сравнении с сортом — стандартом можно отметить, что сорт Золотистый характеризуется отсутствием IV зоны, а сорта Айсберг и Орфей — V.

Вероятно, данная особенность отражает уровень и характер межсортового полиморфизма.

Принимая во внимание, что сорт Айсберг получен путем экспериментального мутагенеза из сорта Циан, интересно сравнение белковых спектров данных образцов. Как видно из рис., в целом белковые спектры этих генотипов достаточно близки, но наблюдается определенный полиморфизм по V зоне. Кроме того, белковые компоненты в III и IV зоне у сорта Айсберг более интенсивно окрашены. Возможно, данная изменчивость является следствием произошедших мутаций, приведших к значительным отличиям от исходного генотипа по ряду морфологических признаков, продуктивности и масличности.

Селекционные образцы №20034, 20073, 20098, 20082 обладают более полиморфными спектрами. Они характеризуются большой степенью гетерогенности белков в зонах, что отличает их от исследованных сортов. На наш взгляд, это связано с влиянием отбора определенных генных комплексов в процессе селекции.

Между сортами разных селекционных центров наблюдалось определенное сходство по стабильным белковым зонам и распределению в них белковых компонентов (рис., табл.). В тоже время, спектры украинских и иностранных сортов имеют определенный полиморфизм по вариабельным зонам, которые характеризуются не только специфическим набором компонентов, но и распределением белковых компонентов в них, а также их количественным соотношением. Отличия проявлялись и в интенсивности отдельных белковых полос. Значительную степень белкового полиморфизма показал сорт Байкал, у которого белковые компоненты имели меньшую подвижность по сравнению с другими сортами.

Таким образом, на примере исследуемого материала продемонстрирована принципиальная возможность электрофоретического разделения запасных белков семян льна для идентификации образцов культурного льна, в том числе коммерческих сортов. Используемая в данной работе методика позволяет определить количество белковых зон и полос в каждой из них у сортов и селекционных образцов.

На электрофоретических спектрах исследуемых образцов было выделено ряд стабильных белковых зон — I, II, III и вариабельных — IV, V.

Используя метод электрофореза запасных белков семян, установлены и описаны белковые спектры 11 сортов. По электрофореграммам отмечен межсортовой полиморфизм сортов льна украинской и иностранной селекции.

Литература

1. Кутузова С.Н., Гаврилюк И.П., Егги Э.Э. Перспективы использования белковых маркеров в уточнении систематики и эволюции рода *LINUM L.* // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции.— Л.: ВИР, 1999.— Т.156.— С. 23–39.

2. Молекулярно-биологические аспекты прикладной ботаники, генетики и селекции / Конарев В.Г., Гаврилюк И.Г., Губарев Н.К. и др.; под редакцией В.Г. Конарева.— М.: Колос, 1993.— 447 с.

3. Лапина Г.П. Электрофоретические спектры семян разных сортов льна // Физиология и биохимия культ. раст.— 1989.— Т.21, N5.— С. 494–500.

4. Юренкова С.И., Хотылева Л.В., Жученко А.А. Сравнительное изучение изоферментных спектров сортов льна-долгунца // Доклады АН Беларуси.— 1992.— Т.36, №5.— С. 473–475.

Резюме

В результате изучения электрофоретических спектров линий льна масличного был выделен ряд стабильных и вариабельных белковых зон. Используя метод электрофореза запасных белков семян льна масличного, установлены и описаны белковые спектры 11 сортов и 4 селекционных образцов. По электрофореграммам отмечен межсортовой полиморфизм льна украинской и иностранной селекции.

В результаті вивчення отриманих електрофоретичних спектрів сортів та селекційних зразків виділені ряд стабільних та варіабельних білкових зон. Використовуючи метод електрофорезу запасних білків насіння льону, встановлені та описані білкові спектри 11 сортів та 4 селекційні зразки. По електрофореграммам відмічені міжсортовий поліморфізм сортів льону української та іноземної селекції.

In result of studying of electrophoreses spectrum of varieties and breeding samples the proteins zone stability and variability were found. Using the method of electrophoreses of storage oil flax proteins the protein spectrum of 11 varieties and 4 breeding samples were established and described. After the electrophoreses spectrum of the intervariety polymorphism of flax's variety the Ukrainians and foreign breeding was marked.

МІЩЕНКО С.В.

Институт луб'яних культур УААН,

Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул. Терещенків, 45, e-mail:

ibc@sm.ukrtel.net

ЕВОЛЮЦІЙНИЙ РОЗВИТОК СТАТІ *CANNABIS SATIVA L.*: ГЕРМАФРОДИТИЗМ — ОДНОДОМНІСТЬ — ДВОДОМНІСТЬ

Статевий поліморфізм конопель (*Cannabis sativa L.*) — унікальне природне явище, вивчення філогенезу і генетичних факторів якого завжди цікавило дослідників.

За Е.Л. Кордюм, Г.И. Глущенко еволюційний розвиток статі рослин може здійснюватися двома шляхами: дводомні рослини виникають від гермафродитних через проміжну однодомну форму або безпосередньо від гермафродитів [1]. М.Д. Мигаль вважає, що явище статевого поліморфізму конопель, яке виражається в наявності дводомних рослин, статевих типів однодомних конопель з фемінізованим і маскулінізованим габітусом та різним співвідношенням чоловічих і жіночих квіток у суцвітті, а також різних форм інтерсексуальності, є прямим відображенням особливостей онтогенетичного й філогенетичного розвитку [2]. Н.Н. Гришко вказує на те, що коноплі пройшли