

АНАЛІЗ ТА ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ

УДК 581.1

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, г. Одесса, Овидиопольская дорога, 3, e-mail: olgamolod@ukr.net

ХАРАКТЕР ИЗМЕНЧИВОСТИ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА 7S И 11S ГЛОБУЛИНОВЫХ БЕЛКОВ У ГИБРИДОВ F₄ СОИ

Зернобобовые культуры являются основным источником растительного белка в питании человека и животных. Особое место среди этих культур отводится сое. На мировом рынке она считается стратегической культурой XXI века и передовые страны Европы, Азии и Америки, используя совершенные технологии выделения и очистки ее белков, производят из них продукты питания. Установлено, что наиболее перспективными белками для производства соепродуктов являются глобулины, а именно 7S (β -конглицинин) и 11S (глицинин) глобулиновые фракции [1].

Внимание исследователей всего мира сконцентрировано на улучшении качества употребляемых в пищу бобовых культур, в том числе сои. 11S и 7S глобулины – это высокомолекулярные белки с четвертичной структурой и неодинаково сбалансированы по аминокислотному составу. 7S глобулины являются гликопротеинами с молекулярной массой 150 кД и содержат 3 субъединицы: α' (76 кД), α (72 кД) и β (52 кД). 7S глобулины оказывают как положительное, так и отрицательное влияние на здоровье человека [2]. 11S фракция глобулинов содержит 3 основных белка, вызывающих аллергическую реакцию: 28 кД, α и β субъединицы [3]. Поэтому при создании сортов сои продовольственного направления необходимо контролировать как содержание, так и компонентный состав этих фракций. По литературным данным, самое высокое соотношение 11S/7S имеет гибрид Tohoku 124 [4]. Одновременно этими авторами создан гибрид, у которого полностью отсутствует 11S фракция. Как правило, соотношение 11S/7S фракций в семенах сои составляет 0,7–1,8. Основной целью наших исследований было изучение полиморфизма компонентного состава 7S и 11S глобулинов у гибридов F₄ сои и их родительских форм, идентификация различий в компонентном

составе этих белков с тем, чтобы в дальнейшем, установив наличие-отсутствие определенных компонентов, связать их с функциональными свойствами этих белков и содержанием белка в семенах сои.

Материалы и методы

Исследования проводились на гибридной комбинации растений F₄ (семена F₅) сои (*Glycine max* L.) (Вилана х [Юрьевка х Изумрудная]), содержащей 23 семьи и их родительских формах. 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. Выделение 7S и 11S глобулинов сои проводили методом, разработанным в лаборатории [5], а идентификацию этих белков – методом SDS электрофореза в 15% ПААГ с 1% SDS, используя прибор фирмы Nem-Hoff. В качестве маркеров молекулярной массы использовали следующую белковую смесь: 97 кДа – фосфорилаза В, 67 кДа – бычий сывороточный альбумин, 43 кДа – альбумин яичный, 30 кДа – карбоангидраза, 20 кДа – ингибитор трипсина, 14,4 кДа – лактальбумин.

Анализ результатов и статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ «Анализ данных электронных таблиц «Microsoft Excel» программы обработки изображений «Imagel»».

Результаты и обсуждение

Как показали наши исследования, на электрофореграммах и денситограммах 7S и 11S глобулинов прослеживаются различия как по интенсивности окрашивания белков, молекулярной массе, так и по наличию-отсутствию белковых компонентов, характерных для данной комбинации. У изучаемой гибридной комбинации и родительских форм количество белковых

компонентов в электрофоретическом спектре 7S лобулинов находится в интервале 27–32, в электрофоретическом спектре 11S глобулинов в интервале 25–28 компонентов. Электрофоретический спектр суммарных глобулинов включает от 22 до 26 полипептидных компонентов.

Фракции 7S и 11S глобулинов, по данным электрофореза, были условно разделены по молекулярной массе белков на 3 группы: высокомолекулярные (с молекулярной массой 97–65 кД), среднемoleкулярные (с молекулярной массой 45–30 кД) и низкомолекулярные

(с молекулярной массой 20,1–14,4 кД), а также на группы по количеству семей с одинаковым компонентным составом (табл. 1–3).

Анализ электрофоретических спектров суммарной фракции, 7S и 11S фракций глобулинов семян изученной гибридной комбинации показал, что часть семей имеют отцовский или материнский компонентный состав глобулинов. Наряду с этим у некоторых семей гибридов F₄ специфический, свойственный только им, компонентный состав глобулинов.

Таблица 1. Изменчивость компонентного состава 7S глобулинов у гибридов F₄ сои

Образец	Количество компонентов 7S глобулинов			Суммарное количество компонентов	Количество семей	
	ВМ	СМ	НМ		Число	%
Вилана ♀	10	14	5	29		
Юрьевка х Изумрудная ♂	11	12	5	28		
Виллана х (Юрьевка х Изумрудная) F ₄						
номер группы						
1	10	12	5	27	6	26,1
2	10	14	5	29	5	21,7
3	11	12	5	28	2	8,7
4	11	13	5	29	2	8,7
5	11	14	6	31	1	4,3
6	12	14	6	32	2	8,7
7	12	13	6	31	5	21,7

Примечание: ВМ – высокомолекулярные белки, СМ – среднемoleкулярные белки, НМ – низкомолекулярные белки.

Таблица 2. Изменчивость компонентного состава 11S глобулинов у гибридов F₄ сои

Образец	Количество компонентов 11S глобулинов			Суммарное количество компонентов	Количество семей	
	ВМ	СМ	НМ		Число	%
Вилана ♀	11	11	5	27		
Юрьевка х Изумрудная ♂	12	11	5	28		
Виллана х (Юрьевка х Изумрудная) F ₄						
номер группы						
1	11	11	5	27	7	30,4
2	11	10	4	25	1	4,3
3	12	5	6	28	6	26,1
4	12	10	4	26	5	21,7
5	12	10	5	27	5	21,7

Примечание: ВМ – высокомолекулярные белки, СМ – среднемoleкулярные белки, НМ – низкомолекулярные белки.

Таблица 3. Изменчивость компонентного состава суммарных глобулинов у гибридов F₄ сои

Образец	Количество компонентов суммарных глобулинов			Суммарное количество компонентов	Количество семей	
	ВМ	СМ	НМ		Число	%
Виллана ♀	10	10	5	25		
Юрьевка х Изумрудная ♂	9	11	5	25		
Виллана х (Юрьевка х Изумрудная) F ₄						
номер группы						
1	10	10	5	25	7	8,69
2	9	9	5	23	2	8,69
3	9	8	5	22	8	34,8
4	10	8	5	23	4	17,4
5	9	11	5	25	5	21,7

Примечание: ВМ – высокомолекулярные белки, СМ – среднемoleкулярные белки, НМ – низкомолекулярные белки.

Выводы

Компонентный состав 11S и 7S глобулинов у 23 семей гибридной комбинации F₄ (Вилана × [Юрьевка × Изумрудная]) полиморфен. Дальнейшие исследования, проведенные на линиях этой гибридной комбинации, позволят подтвердить полученные результаты и изучить характер наследования 7S и 11S глобулиновых фракций белков. Учитывая дискретный характер наследования отдельных компонентов электро-

форетических спектров, полученные результаты могут иметь большое значение для селекции сои, которая ведется не только на белок, но и на наиболее ценные белковые компоненты, определяющие функциональные свойства 7S и 11S глобулинов. Установлено, что между содержанием белка и соотношением 11S и 7S глобулинов существует функциональная взаимосвязь.

Литература

1. Клименко В.Г. Белки семян бобовых растений. – Кишинев: Штиица, 1978.
2. Moraes R.M.A. Genetic variation and environmental effects on the beta-conglycinin and glycinin content in Brazilian soybean cultures // Pesquisa Agropecuaria Brasileira. – 2006. – 41. – P. 725–729.
3. Yaklich R.W. в-Conglicinin and glicinin in high-protein soybean // G. Agric. Food.Chem. – 2000. – 49. – P. 729–735.
4. Takahashi M., Hajika M., Matsunaga R. et al. Breeding soybean variety lacking в-conglycinin by introduction of Scg gene from wild soybean / In International soybean processing and utilization conference 3. – Tsukuba proceedings. Tsukuba. – The Japanese Society for food and science and technology. – 2000. – P. 45–46.
5. Адамовська В.Г., Молодченкова О.О., Січкач В.І., Цісельська Л.Й., Сагайдак Т.В. Спосіб добору сої. Патент на корисну модель № 42181 від 25.06.2009. Бюл.

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, 3, e-mail: olgamolod@ukr.net

CHARACTER OF COMPONENT COMPOSITION VARIATION OF 7S AND 11S GLOBULINS AT THE F₄ HYBRIDS OF SOYBEEN SEED

Aims. Glycinin (11S globulin) and β-conglycinin (7S globulin) are important seed storage proteins in soybean. The objective of this work was to analysis of variation in the electrophoretic patterns of 11S and 7S globulins of F₄ hybrids of soybean seed. **Methods.** 7S and 11S globulins were separated by method, which was developed in the Laboratory of Plant Biochemistry (Patent # 42181). The pictures of the 11S and 7S globulins were got with SDS-PAGE electrophoresis. **Results.** It was established, that part of 23 families of hybrid combination (Vilana × [Yurievka × Izumrudnaya]) have the paternal or maternal component composition of glycinin, β-conglycinin and summary globulins. Some families of studied hybrid combination of soybean have the specific, peculiar only by him, component composition of globulins.

Conclusions. The got results testify that component composition of 7S and 11S globulins in the soybean F₄ hybrids is polymorphic. Further researches of these indexes on the soybean F₅ hybrids will allow study the character of inheritance of component composition of 11S and 7S globulins, which responsible for quality of products from soybean. The results provide a basis to improve soybean protein quality and breed high quality variety.

Key words: *Glicine max* L., 11S globulin, 7S globulin.

УДК 575.17: 582.923.1

АНДРЕЄВ І.О.¹, МОСУЛА М.З.², МЕЛЬНИК В.М.¹, БУБЛИК О.М.¹, КОНВАЛЮК І.І.¹, ДРОБИК Н.М.²

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,

Україна, 03680, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: i.o.andreev@imbg.org.ua

² Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Україна, 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2, e-mail: maryanamosula@gmail.com

ПОРІВНЯННЯ ПОКАЗНИКІВ ІНФОРМАТИВНОСТІ ПЛР-МАРКЕРІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ ГЕНЕТИЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ НА ПРИКЛАДІ *GENTIANA LUTEA* L.

Одними з найефективніших інструментів дослідження генетичного різноманіття рослин є методи молекулярно-генетичного аналізу на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), які дозволяють отримати інформацію про генетичну структуру виду, унікальність генофонду окремих популяцій. Необхідною передумовою використання таких методів є пошук оптимальних молекулярно-генетичних маркерів та оцінка їхньої інформативності.

Для оцінки інформативності маркерів запропоновано кілька показників. Зокрема, це показник інформативності РІС (*polymorphism information content*), який було спершу використано для оцінки інформативності маркерних локусів під час побудови карт генетичного зчеплення у людини [1], а пізніше разом із індексом інформативності маркерів (*marker index*, MI), що дорівнює добутку РІС на кількість поліморфних локусів, застосовано для оцінки різних типів ПЛР-маркерів [2]. Роздільну здатність (*resolving power*, Rp) було запропоновано як показник здатності праймерів або систем ПЛР-маркерів розрізняти зразки між собою [3]. Розпізнавальна здатність (*discrimination power*, D) та її границя за умови прямування кількості аналізованих зразків до нескінченності (*discriminating power*, D₁) відображають ймовірність того, що два довільно обрані індивіди мають різні набори ПЛР-продуктів, і таким чином відрізняються один від одного [4].

Метою нашого дослідження було порівняння та вибір найбільш ефективних для оцінки генетичного різноманіття показників

інформативності ПЛР-маркерів. Як модельний об'єкт було використано тирлич жовтий (*Gentiana lutea* L.) – рідкісну реліктову рослину, яка на території України зростає лише в Карпатах. У зв'язку зі скороченням ареалу, зменшенням чисельності та порушенням структури популяцій внаслідок дії біотичних та антропогенних чинників, вид занесений до Червоної книги України (2009 р.) [5]. Цінність цієї лікарської рослини та потенційна потреба в сировині зумовлює необхідність оцінки її ресурсів в Україні та визначення можливих засобів їх збереження та відновлення. Для розширення спектру ділянок геному, що відрізняються за функціональним значенням, в генетичному аналізі було використано ПЛР-маркери кількох типів, а саме: ISSR-маркери, які виявляють міжмікросателітні ділянки, IRAP-, асоційовані з кінцевими послідовностями LTR-ретротранспозонів, а також CDDP- та RGAP-маркери, що можуть бути безпосередньо пов'язані із кодувальними ділянками функціонально важливих генів стійкості до хвороб та відповіді на стрес.

Матеріали і методи

Для дослідження використали по 15 рослин *G. lutea* з двох популяцій, які знаходяться на хребті Свидовець в Українських Карпатах (полонина Крачунеска, г. Трояска-Татарука). Використання в аналізі рослин з двох популяцій дозволило певною мірою врахувати міжпопуляційні відмінності, оскільки *G. lutea* належить до видів з фрагментованим ареалом, для яких існує висока ймовірність значної диференціації популяцій.