

Если у гибридов с культурным типом роста число семян одного растения было близко к материнским формам, то растения промежуточного типа имели неполное доминирование признака дикой сои.

*Масса 1000 семян.* Анализ наследования этого признака показал, что масса 1000 семян у материнских форм ♀ Садовый – 170 г и ♀ 5/28 x Л. 62 – 177 г, у гибридов F<sub>2</sub> культурного типа – 174 г (№ 54) и 176 г (№ 58), соответственно, что говорит о доминировании генов культурной сои. У промежуточных гибридов величина этого признака значительно ниже – 74 г (№ 55) и 90 г (№ 59) материнских, но выше отцовских форм, т.е. имело место неполного доминирования генов дикой сои.

*Содержание белка и масла в семенах.* Наибольшее содержание белка отмечено у отцовских форм КЗ-6337 (48,8%) и КЗ-1413 (49,5%). У гибридов с культурным и промежуточным типом роста содержание белка и масла в семенах сои были близки к материнским сортообразцам ♀ Садовый – 170 г и ♀ 5/28 x Л. 62.

Таким образом, анализ наследования длины стебля, числа и массы семян одного растения в F<sub>2</sub> показал, что гибриды с культурным типом роста находятся на одном уровне с культурной соей, т.е. определяются генами культурной сои. У гибридов с промежуточным типом роста длина стебля, число семян одного растения детерминированы генами дикой сои.

УДК 581.19

### ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ СПЕКТРОВ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ В СЕМЕНАХ СОИ АМУРСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Л.Е. Иваченко, БГПУ

Изучение генетического полиморфизма лежит в основе современной генетики. Термин «полиморфизм» означает проявление индивидуальной изменчивости, обусловленной аллельным состоянием одного и того же гена или кластеров генов.

До недавнего времени все закономерности изменчивости и наследственности изучались при помощи анализа внешних морфологи-

ческих характеристик. Однако все эти признаки далеко не всегда изменяются дискретно, и на их проявление оказывают условия жизни. В последние годы биологическая наука осознает недостатки изучения только морфологических особенностей организмов. Крайне остро это проявляется в селекции, где главное внимание уделяется количественным полигенным признакам: продуктивности, устойчивости к абиотическим стрессам, качеству урожая, уровень которых сильно варьирует под влиянием условий жизни. Поэтому селекционер для получения информации о свойствах генотипа вынужден проводить многократную оценку селекционных форм и на основании биометрического анализа выделять среди них лучшие. Особенно сложно дифференцировать генотипы на первых этапах селекционного процесса, когда ведется оценка отдельных растений и животных. Генетика, селекция и систематика остро нуждаются в принципиально новых методах получения объективной информации о свойствах генотипа.

Одним из важнейших путей получения информации о генотипе может служить исследование полиморфизма белков (6, 7). Любой полипептид может служить маркером кодирующего его гена. Белок является фенотипическим признаком и лучше отражает особенности генотипа, чем любые морфологические признаки. Так как белки являются одним из первых продуктов экспрессии генов, то по их строению представляется возможность судить о строении генов, а следовательно, получать более надежную информацию о генотипе. Первыми белками, которые отвечают требованиям, предъявляемым к генетическим маркерам, оказались ферменты.

В 50-е годы 20 века было установлено, что многие ферменты присутствуют в клетках животных, растений и микроорганизмов в виде множественных молекулярных форм (изоферментов) и представляют собой смеси белковых молекул, обладающих близкими каталитическими свойствами, но отличающихся по некоторым физико-химическим показателям (8).

Открытие множественных форм ферментов и успехи в их изучении стали возможны благодаря применению в биохимических исследованиях середины 20 века метода энзим-электрофореза. Разделение белковых молекул по молекулярной массе и заряду происходит под влиянием постоянного тока на гелевых носителях. Затем производят фиксацию и специфическое для каждого фермента окрашивание. В результате получается спектр полос, которые несут информацию о компонентном составе исследуемых ферментов. На электро-

фореграмме ширина зон и интенсивность их окраски соответствуют содержанию и активности отдельных изоферментов. Основным критерием для номенклатуры множественных молекулярных форм ферментов стала их относительная электрофоретическая подвижность  $R_f$  (9, 10).

Характер распределения множественных молекулярных форм ферментов связан с интенсивностью и направлением процессов обмена веществ, а также регуляторными системами организмов. Именно они создают большую пластичность приспособления биохимических процессов организма к непрерывно изменяющимся условиям среды и являются основным механизмом адаптации. Открытие изоферментов также предоставило возможность для решения кардинальных проблем энзимологии, генетики, селекции, эволюционного учения и систематики. Огромная практическая значимость изучения полиморфизма ферментных систем в том, что изоферменты - это эффективные генетические маркеры (12).

Работы Айяла, Корочкина, Гвоздева, Конарева, Плешкова, Маркерта, Бергера, Джонсона и др. внесли значительный вклад в разработку фундаментальных исследований изоферментов. Наиболее полный анализ изоферментов проведен у дрозофилы. В последние годы значительное число работ посвящено исследованию изоферментов растений. При этом оказалось, что растения - более удобный объект исследования полиморфизма белков, чем животные. Это связано с обилием материала, значительным числом разнообразных видимых мутантов, хорошо различимых фаз развития, полиплоидных форм и т. д. Неплохим объектом исследования являются зрелые семена растений, которые представляют четко определенную фазу развития. В настоящее время достаточно подробно изучены изоферменты пшеницы, ржи, ячменя, кукурузы, сосны и других растений (7, 8, 10, 12).

В Амурской области ведущей сельскохозяйственной культурой является соя, которая имеет ценный химический состав. Она отличается благоприятным сочетанием протеина (29-53%), масла 14-25%, до 35% углеводов, наличием биологически активных веществ: фосфатидов (2,5%), комплексом витаминов группы В, жирорастворимыми витаминами Д, Е и каротином (провитамин А), а также минеральных легкоусвояемых солей (кальция, магния, калия, фосфора). Поэтому соя давно является ценным сырьем для пищевой промышленности в Китае, США и ряде других стран и, наконец-то, продукты питания из

сои появились в нашей области. Но биохимический состав сортов сои, которые выращиваются в нашем регионе, мало изучен, в селекции используются до сих пор устаревшие методики. Кроме того, соя в нашей области выращивается в различных агроклиматических условиях, что оказывает влияние на урожайность, биохимический состав семян. Поэтому целью исследования стало изучение распределения электрофоретических спектров некоторых ферментов в семенах районированных сортов сои.

### Материал и методы исследования

Изучение влияния условий окружающей среды на ферментный состав семян сои было начато в биохимической лаборатории БГПУ в середине 80-х годов совместно с сотрудниками отдела семеноведения ВНИИ сои, откуда мы получали семена районированных и перспективных сортов сои. В настоящее время исследования идут совместно и с научно-исследовательским институтом селекции технических растений ДальГАУ. За эти годы разработаны методики для обнаружения активности и множественных форм более 10 ферментов, в том числе каталазы, пероксидазы, рибонуклеазы, кислой фосфатазы, некоторых дегидрогеназ, эстеразного комплекса, суммарной амилазной активности и проводятся экспериментальные исследования. Для каждого исследуемого фермента были изучены основные физико-химические свойства: зависимость активности фермента от температуры, концентрации субстрата, от pH среды, времени протекания химической реакции и количества белка (1, 2, 3, 4, 14, 15, 16).

Все анализы осуществляли в двух биологических и трех аналитических повторностях. Разделение ферментов осуществляли методом энзим-электрофореза в 7,5% полиакриламидном геле (ПААГ) (17). Электрофорез проводили в электродном трис-глициновом буфере, pH = 8,3, при напряжении 380 В, силе тока 2,5 мА на каждую колонку, при температуре +2 - +6°C. В качестве метчика использовали бромфеноловый синий.

Выявление на геле зон с ферментативной активностью проводилось спедифическим окрашиванием для каждого фермента. Колонки хранились в отмывочной смеси (13).

## Результаты и обсуждение

При изучении изоферментного состава исследуемых ферментов в семенах различных сортов сои было установлено, что наборы их изоферментов существенно различаются как по сортам, так и по зонам выращивания (рис.1).

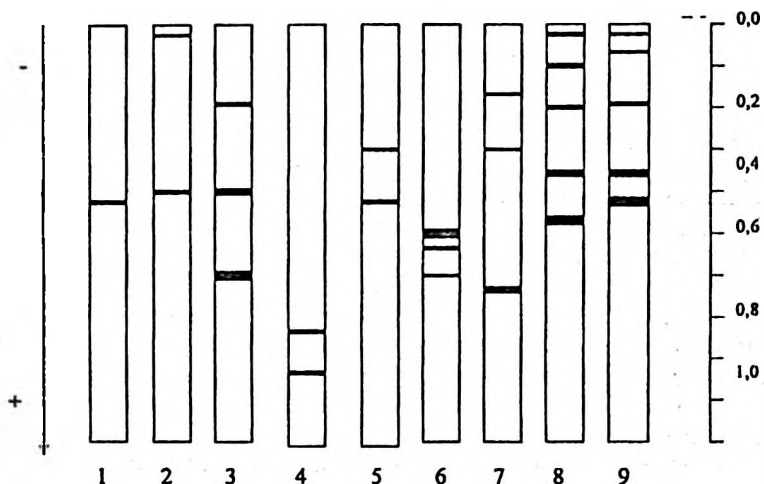


Рис.1 Электрофоретические спектры ферментов в семенах сои сорта ВНИИС-1, выращенных в южной агроклиматической зоне. 1 – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 2 – алкогольдегидрогеназа, 3 – малатдегидрогеназа, 4 – рибонуклеаза, 5 – каталаза, 6 – пероксидаза, 7 – эстеразный комплекс, 8 – амилазный комплекс, 9 – кислая фосфатаза.

Стабильным мономорфным ферментом в семенах сои оказался фермент глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, основной фермент пентозо-фосфатного пути обмена углеводов. Для этого фермента выявлена всего одна форма со средней электрофоретической подвижностью. Небольшая гетерогенность выявлена для фермента каталазы, состоящей из двух изоформ, кроме сорта ВНИИС-1 выращенного в север-

ной агроклиматической зоне. Кроме того, недавно проведенные исследования каталазы на большом количестве сортов показали также невысокую гетерогенность этого фермента в семенах сои.

Для фермента рибонуклеазы, участвующей в деструкции РНК, в семенах сои сортов Смена, Октябрь-70, Луч Надежды, Грибская выявлена одна низкомолекулярная форма,  $R_f$  которой варьирует от 0,7 до 0,9; у сорта ВНИИС-1 - две низкомолекулярные формы с электрофоретической подвижностью равной 0,7 и 0,8, у сорта Перестройка обнаружена одна среднемолекулярная форма с  $R_f = 0,48$ .

Невысокая гетерогенность выявлена и для фермента алкогольдегидрогеназы, что соответствует литературным данным о множественных молекулярных формах этого фермента для других объектов (Левитес). В сухих семенах сои установлено по три формы фермента, кроме сорта ВНИИС-1 для южной зоны. Также три формы фермента выявлены при исследовании изоферментного состава малатдегидрогеназы в семенах сои.

Результаты наших первых исследований суммарной активности фермента амилазы, участвующей в гидролизе крахмала и последующие эксперименты показали, что в районированных семенах сои сортов ВНИИС-1 и Аврора имеются пять зон фермента. Для сортов Стрелка, Крапинка, Сероглазка, а также новых сортов Соер-4, Закат и Соната выявлена также высокая гетерогенность амилазы, значительно различающаяся как по сортам, так и по зонам произрастания.

Интересные данные получены при определении изоферментов пероксидазы, участвующей в устранении токсичного для организма пероксида. Так, в сухих семенах сорта Аврора функционирует только одна форма фермента с высокой активностью. Для пероксидазы сортов ВНИИС-1 и Крапинка характерными являются три формы фермента, т.е. у них появляются две формы фермента с невысокой активностью. Пероксидаза сортов Рассвет, Сероглазка и Стрелка отличалась высокой гетерогенностью. Следует отметить, что и по литературным данным и по результатам наших дальнейших исследований фермент пероксидаза оказался очень отзывчивым в изменении множественных форм на изменения окружающей среды и заслуживает более глубокого изучения.

Анализируя электрофоретическую подвижность кислой фосфатазы в семенах сои, выращенных в разных агроклиматических зонах, следует отметить постоянство форм выявленных в скороспелых сор-

тах Смена и Закат (совпадают 4 из 5). В семенах позднеспелых сортов сои Октябрь-70 и ВНИИС-1 также выявлена высокая гетерогенность.

Проведены исследования электрофоретических спектров эстеразного комплекса в семенах 13 районированных сортов сои, выращенных в трех агроклиматических зонах Амурской области. В семенах исследуемых сортов сои выявлены 20 электрофоретических спектров эстеразного комплекса. Как и на первых этапах исследований, так и при последующих, в семенах отдельных сортов сои, выращенных в различных агроклиматических условиях, находили от трех до шести форм эстеразы имеющих специфическое распределение.

### Выводы

Таким образом, проведенные электрофоретические исследования показали очень высокую гетерогенность и большую лабильность изоферментного состава семян сои. Установлено, что чем ближе сорта по происхождению, тем более близким был набор их электрофоретических спектров.

Одновременное присутствие в клетках множественных форм одного и того же фермента наряду с другими механизмами регуляции способствует согласованности процессов обмена веществ и быстрой адаптации сои к изменениям внешней среды, что позволяет успешно выращивать ее в сложных агроклиматических условиях нашего региона.

### Литература

1. Иваченко Л.Е., Ефимова Г.П. Активность и множественные формы ферментов в семенах сои, полученных в разных агроклиматических условиях Амурской области. Часть 1. Пероксидазы // Проблемы экологии Верхнего Приамурья: Сб. науч. тр./ Под общ. ред. Л.Г. Колесниковой. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 1995. – вып.2. – С.5-15.
2. Иваченко Л.Е., Ющенко В.И. Активность и множественные формы ферментов в семенах сои, полученных в разных агроклиматических условиях Амурской области. Часть 2. Амилазы // Проблемы экологии Верхнего Приамурья: Сб. науч. тр./ Под общ. ред. Л.Г. Колесниковой. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 1995. – вып.2. – С.16-25.

3. Иваченко Л.Е. Активность и множественные формы ферментов в семенах сои, полученных в разных агроклиматических условиях Амурской области. Часть 3. Эстеразы // Проблемы экологии Верхнего Приамурья: Сб. науч. тр./ Под общ. ред. Л.Г. Колесниковой. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 1995. – вып.2. – С.25-34.
4. Иваченко Л.Е., Шаройко В.И., Ефимова Г.П. Активность и множественные формы ферментов в семенах сои, полученных в разных агроклиматических условиях Амурской области. Часть 6. Каталаза // Проблемы экологии Верхнего Приамурья: Сб. науч. тр. / Под общ. ред. Л.Г. Колесниковой. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 1997. – вып.3. – С.104-108.
5. Иваченко Л.Е., Шаройко В.И., Лескова С.А. Активность и множественные формы рибонуклеазы в семенах районированных сортов сои Амурской области // Проблемы экологии Верхнего Приамурья: Сб. науч. тр. / Под общ. ред. Л.Г. Колесниковой. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2000. – вып.5. – С.58-65.
6. Конарев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. М.: Колос, 1983. – 320с.
7. Конарев В.Л. Белковые маркеры в сортовой идентификации и регистрации генетических ресурсов культурных растений.- Л.: Наука, 1987. – 182 с.
8. Левитес Е.В. Генетика изоферментов растений. – Новосибирск: Наука, 1986.- 145 с.
9. Методы биохимических исследований растений. Под ред. А.И. Ермакова.-Л.: 1987.- 430 с.
10. Плешков Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений. – М.: Агропромиздат. - 1987.- 494 с.
11. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос.- 1985.-253 с.
12. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М.: Наука, 1985. – 272 с.
13. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии.- М.: Просвещение.-1982.- 311с.
14. Филиппович Ю.Б., Иваченко Л.Е., Шаройко В.И. Активность и множественные формы ферментов в семенах сои, полученных в разных агроклиматических условиях Амурской области. Часть 4. Алкогольдегидрогеназа // Проблемы экологии Верхнего Приамурья: Сб. науч. тр./ Под общ. ред. Л.Г. Колесниковой. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 1997. – вып.3. – С.91-96.

15. Филиппович Ю.Б., Иваченко Л.Е., Шаройко В.И., Довалтбегова О.В. Активность и множественные формы ферментов в семенах сои, полученных в разных агроклиматических условиях Амурской области. Часть 5. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа // Проблемы экологии Верхнего Приамурья: Сб. науч. тр. / Под общ. ред. Л.Г. Колесниковой. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 1997. – вып.3. – С.98-103.
16. Филиппович Ю.Б., Иваченко Л.Е., Шаройко В.И. Активность и множественные формы ферментов в семенах сои, полученных в разных агроклиматических условиях Амурской области. Часть 7. Малатдегидрогеназа // Проблемы экологии Верхнего Приамурья: Сб. науч. тр. / Под общ. ред. Л.Г. Колесниковой. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 1999. – вып.4. – С.61-66.
17. Davis B. J. Disc electrophoresis. 11. Method and application to human serum proteinse. – Ann. N. Y. Acad. Sci., 1964, v.121, N1, p.404-427.

УДК 631.151.61:633.853.52 (571.61)

## ИНТЕГРИРОВАННОЕ ФОРМИРОВАНИЕ ПО ПЕРЕРАБОТКЕ СОИ В УСЛОВИЯХ АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ

П.Ф. Черепанов, И.Г. Шелевой, ВНИИ сои

В результате приватизации государственной собственности (в том числе земли), реорганизации колхозов и совхозов в Амурской области созданы новые организационно-правовые формы хозяйствования. Вновь созданные предприятия сталкиваются в настоящее время с множеством проблем, связанных с производством, сбытом, переработкой продукции, материально-техническим снабжением, агросервисным, кредитным и другими видами обслуживания. Действующий экономический механизм не способен обеспечить необходимые условия взаимного сотрудничества, в большинстве случаев он усиливает имеющиеся противоречия.

Искусственное подталкивание процессов разукрупнения сельскохозяйственных предприятий, фермеризация села, насаждение малоэффективных форм хозяйствования ведет к углублению кризисных