

5. Дьяконов К.П. Тли как компонент агроценозов юга Дальнего Востока // Защита растений на Дальнем Востоке. - Владивосток: БПИ ДВО АН СССР, 1989. - С. 39-44.

6. Zucker W. How aphids choose leaves: the roles of phenolics in host selection by a galling aphid. - "Ecology", 1982. - № 4. - P. 972-981.

7. Слепян Э.И. Патологические новообразования и их возбудители у растений. - Л.: Наука, 1973. - 512 с.

8. Дьяконов К.П. Роль бобовых тлей в распространении вирусной инфекции // Вирусные болезни растений и меры борьбы с ними. - Владивосток: БПИ ДВНЦ АН СССР, 1980. - С. 119-124.

9. Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. Микроорганизмы - возбудители болезней растений: Справочник. - Киев: Наукова думка, 1988. - 252 с.

УДК 581.19

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ СПЕКТРОВ У КУЛЬТУРНОЙ *G. MAX* И ДИКОЙ СОИ *G. SOJA*

Л. Е. Иваченко, О. В. Арклис (БГПУ);  
В. С. Ала, А. Я. Ала (ВНИИ сои)

Процветание популяций зависит от адаптивной нормы вида, которая тесно связана с оптимумом генетического разнообразия. Биоразнообразие является лишь внешним проявлением фундаментального свойства любых организмов - быть генетически неоднородными и обладать видовыми, популяционными и индивидуальными отличиями [1]. Первопричиной этих разнообразий является разнообразие генов, или генетический полиморфизм. Для оценки уровня внутривидового полиморфизма обычно используются морфологические и цитологические характеристики. Но сложность генетической интерпретации морфологических

признаков, связанная с полигенным наследованием и, как правило, сильным влиянием среды на фенотипическое проявление признака, зачастую ограничивает их использование в практической работе с конкретным видом. Более высокую дифференцирующую способность имеют молекулярные маркеры: белки и нуклеиновые кислоты. Белки используются популяционными генетиками в качестве молекулярных маркеров уже более трех десятилетий [2]. Поскольку они являются непосредственными продуктами экспрессии генов, белки могут давать информацию, отражающую структуру и состояние соответствующих участков ДНК. Первые работы в области популяционной генетики были проведены еще в середине XX века. Среди методов, использующих различные белковые маркеры, более широкое распространение получил аллозимный анализ, основанный на наследственной изменчивости ферментов. А поскольку эволюция генетической структуры в процессе доместикации сои остается в настоящее время недостаточно исследованной, то получение такой информации могло бы облегчить использование представителей диких видов для улучшения культурных сортов сои [3]. Изучение исходного материала для селекционного процесса с целью выявления биохимических особенностей организма и составление на этой основе индивидуальных программ скрещивания и прогнозирования эффекта гетерозиса является сегодня чрезвычайно перспективным направлением.

При интродукции важно выведение новых сортов, отличающихся устойчивостью к различным неблагоприятным факторам [4]. Показателем устойчивости сорта может служить ферментная система, включающая каталазу и пероксидазу. Эти оксидоредуктазы участвуют в детоксикации активных форм кислорода, регулируют перекисное окисление липидов в мембранах и с участием пероксидазы окисляют разнообразные по своей природе соединения. Хорошо известна роль каталазы и пероксидазы в системе иммунной защиты растений, антипатогенном дейст-

вии по отношению к вирусам и бактериям, к холодовым стрессам, а также к различным загрязнителям окружающей среды.

Ферменты амилазного и эстеразного комплексов, а также кислая фосфатаза относятся к классу гидролаз и участвуют в реакциях расщепления органических соединений при участии воды. Эстеразный комплекс катализирует реакции гидролиза сложных эфиров, к ним относятся липазы и кислая фосфатаза. Амилазный комплекс участвует в реакциях гидролиза полисахаридов.

Цель настоящего исследования - сравнительный анализ полиморфизма ряда ферментов у 10 культурных сортов и сортообразцов и 12 форм дикой сои для оценки их электрофоретических спектров.

### Материал и методика

В качестве объекта исследования использовали сорта и сортообразцы культурной *G. max* (М-28, МК-1, Budgoska, Октябрь 70, Садовый, Юбилейная, Вега, Локус, ДЯ-1, Амурская 1152 и 12 форм дикой сои *G. soja* урожая 2002 года. Формы дикой сои интродуцированы из Зейского, Белогорского и Архаринского районов Амурской области.

Электрофоретические спектры ферментов каталазы, пероксидазы, кислой фосфатазы, амилазного и эстеразного комплексов выявляли методом энзим-электрофореза в 7,5% ПААГ по Дэвису [5]. Окрашивание на геле зон с ферментативной активностью проводилось соответствующими гистохимическими методами [6].

### *Результаты и обсуждение*

Изучение электрофоретических спектров вышеназванных ферментов в семенах дикой сои различного филогенетического происхождения показало значительные различия в их распределении в семенах дикой и культурной сои (рис. 1).

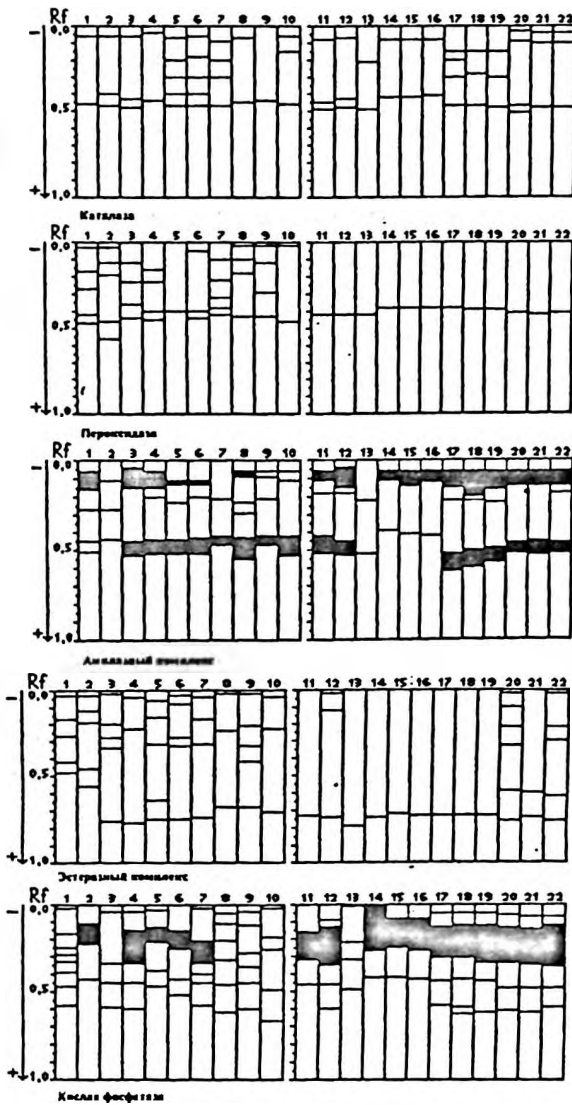


Рис. 1. Электрофоретические спектры каталазы, пероксидазы, амилазного и эстеразного комплексов, кислой фосфатазы в семенах культурной (1-10) и дикой (11-22) сои:

- |            |                  |             |             |             |
|------------|------------------|-------------|-------------|-------------|
| 1. М-28    | 6. Октябрь 70    | 11. КБ-103  | 16. КЗ-6332 | 21. КА-1433 |
| 2. Садовый | 7. Юбилейная     | 12. КБ-106  | 17. КЗ-6328 | 22. КА-1403 |
| 3. Локус   | 8. ДЯ-1          | 13. КЗ-6329 | 18. КА-1413 |             |
| 4. Вега    | 9. Амурская 1152 | 14. КЗ-6358 | 19. КА-1444 |             |
| 5. МК-1    | 10. Budgoska     | 15. КЗ-6350 | 20. КА-1396 |             |

Анализ электрофоретических спектров пероксидазы в семенах сои показал невысокую гетерогенность этого фермента в семенах дикой сои и более широкий полиморфизм в семенах культурной сои. Во всех формах дикой сои была обнаружена только одна зона активности пероксидазы с  $R_f = 0,40$ .

В семенах культурной сои выявлено до восьми зон активности исследуемого фермента, причем по разным сортам отмечено от одной до пяти зон активности пероксидазы, различающихся по подвижности. Одна зона активности обнаружена для семян сои сорта МК-1, две – Будгоска, три – Октябрь-70, четыре – Вега, Локус, ДЯ-1, Амурская –1152, по пять зон – М-28, Садовый, Юбилейная. Следует отметить, что все сорта имели специфический тип распределения зон активности и лишь для сортов Локус и Вега электрофоретические спектры имели некоторое сходство.

Для фермента каталазы выявлена невысокая гетерогенность в исследуемых семенах. По две зоны активности установлено в семенах дикой сои из Зейского района (кроме формы КЗ-6328, где выявлено четыре зоны активности). Две формы дикой сои из Белогорского района имеют абсолютно одинаковые электрофоретические спектры, состоящие из трех зон активности каталазы. Имеют сходство и электрофоретические спектры каталазы в семенах дикой сои из Архаринского района. В этих семенах обнаружено две зоны каталазной активности с невысокой электрофоретической подвижностью и одна - со средней. В семенах сои формы КА 1396, кроме двух зон с невысокой электрофоретической подвижностью, очень четко были получены две зоны активности со средней электрофоретической подвижностью.

Кроме того, было установлено, что пероксидаза дикой и культурной сои имеет одинаковую для всех форм и сортов зону активности со средней электрофоретической подвижностью с  $R_f = 0,38 - 0,40$ .

Электрофоретические спектры каталазы в семенах культурной сои различались между собой незначительно. Только одна

зона активности каталазы выявлена в семенах сорта Амурская-1152. Сходными по подвижности (две зоны активности) оказались электрофоретические спектры каталазы для сортов М-28, Вега, ДЯ-1. По три зоны активности характерны для сортов Садовый и Локус и несколько отличным от них оказался электрофоретический спектр сорта Budgoska, состоящий также из трех зон активности. Высокая гетерогенность каталазы выявлена для сортов МК-1, Октябрь-70 и Юбилейная. Для этих сортов установлено по 4-5 зон каталазной активности, значительно различающихся по электрофоретической подвижности.

Таким образом, фермент каталаза в семенах сои в условиях 2002 года оказался более стабильным ферментом. Все сорта культурной сои и дикие формы имели одну зону каталазной активности со средней электрофоретической подвижностью (с  $R_f = 0,44 - 0,48$ ) и почти все - одну низкоподвижную зону с  $R_f = 0,05 - 0,07$ .

Анализируя электрофоретические спектры амилазного комплекса, следует отметить их невысокую разницу в электрофоретических спектрах между соей различного филогенетического происхождения. Из-за невысокой активности фермента в условиях 2002 года некоторые зоны активности проявились слабо. Хотя следует отметить практически для всех исследуемых образцов присутствие двух зон амилазной активности с низкой и средней электрофоретической подвижностью. Кроме этого, в электрофоретических спектрах выявлены зоны с промежуточной подвижностью (кроме сорта ДЯ-1 и некоторых диких форм).

Значительные различия в электрофоретических спектрах эстеразного комплекса, получены между семенами культурной и дикой сои. Для семян сои характерна невысокая гетерогенность. Во всех исследуемых формах дикой сои выявлена зона эстеразной активности с высокой электрофоретической подвижностью ( $R_f = 0,73 - 0,77$ ). Причем для форм из Зейского района характерна только одна эта зона. Более высокой гетерогенностью отличились формы из Архаринского района (от двух до шести зон

активности). В исследованиях по эстеразному комплексу культурной сои почти во всех исследуемых сортах (кроме М-28 и Садовый) установлена высокоподвижная зона этого фермента, характерная для диких форм. Кроме того, в семенах культурной сои установлена высокая гетерогенность эстеразного комплекса (десять зон активности), значительно различающаяся по сортам. В электрофоретических спектрах культурной сои выявлено от трех (Вега, ДЯ-1) до пяти у большинства исследованных сортов зон активности. Значительное число зон активности эстеразного комплекса соотносится с более высоким содержанием масла в семенах культурной сои по сравнению с дикой.

Электрофоретические спектры кислой фосфатазы обладают высокой гетерогенностью. В семенах культурной сои выявлено от трех - четырех до восьми зон активности, а в семенах диких форм сои - от трех до шести. Практически для всех исследуемых образцов характерна одна зона активности с невысокой электрофоретической подвижностью с  $R_f = 0,03 - 0,07$  и для всех - зона со средней электрофоретической подвижностью с  $R_f = 0,42 - 0,48$  и более высокой подвижностью с  $R_f = 0,57 - 0,65$ .

### Выводы

Таким образом, в семенах культурной и дикой сои выявлены характерные электрофоретические спектры энзиматической активности для каталазы, пероксидазы, кислой фосфатазы, амилазного и эстеразного комплексов. Установлены значительные различия в электрофоретических спектрах пероксидазы и эстеразного комплекса в семенах сои различного филогенетического происхождения, причем в метеорологических условиях 2002 года в семенах дикой сои эти ферменты имеют невысокую гетерогенность. Более высокий полиморфизм выявлен для ферментов кислой фосфатазы в семенах дикой и культурной сои и для пероксидазы и эстеразного комплекса в семенах культурной сои. Электрофоретические спектры амилазного комплекса в семенах

дикой и культурной сои различаются незначительно. Две зоны активности каталазы со средней и низкой электрофоретической подвижностью выявлены практически во всех исследуемых образцах. Установлена обратная зависимость между гетерогенностью каталазы и пероксидазы в исследуемых сортах культурной сои.

### Литература

1. Алтухов Ю.П., Корочкин Л.И., Рычков Ю.Г. Наследственное биохимическое разнообразие в процессе эволюции и индивидуального развития // Генетика. - 1996. - Т.32. - № 11. - С.1450-1473.
2. Алтухов Ю.П. Внутривидовое генетическое разнообразие: мониторинг и принципы сохранения // Генетика. 1995. Т.31. № 10. - С. 1333 - 1357.
3. Ала А.Я. Изучение и использование генофонда культурной и дикой сои в селекции. Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. П. Тимирязевский: ДВНМЦ РАСХН ПримНИИСХ, 2002. - 49 с.
4. Глазко В.И. Генетически детерминированный полиморфизм ферментов у некоторых сортов сои (*Glycine max*) и дикой сои (*Glycine soja*) // Цитология и генетика. 2000. Т.34. № 2. - С.77-83.
5. Devis B.J. Disc electrophoresis. 11. Method and application to human serum proteinase. - Ann. N.Y.Acad. Sci. - 1964. - V.121, N 1. P. 404-427.
6. Левитес Е.В. Генетика изоферментов растений. - Новосибирск: Наука, 1986. - 145 с.