

УДК 634.235:581.192.2:57.087.1

**АНАЛИЗ ЛЕГКОРАСТВОРИМЫХ
ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ СЕМЯН ГЕНЕТИЧЕСКИ
РАЗНООБРАЗНЫХ ВИДООБРАЗЦОВ
МИКРОВИШНИ ПРОСТЁРТОЙ**

Коваленко Н. Н., Половянов Г. Г.

*Филиал Крымская опытно-селекционная станция
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт
генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова»,
г. Крымск, Россия; kross67@mail.ru*

Проведён биохимический анализ легкорастворимых запасных белков семян одного из видов рода микровишни (*Microcerasus* Webb. emend Spach.) – микровишни простёртой (*M. prostrata* (Labill.) M. Roem.) вариаций var. *bifrons*, var. *tianshanica*, var. *verrucosa* коллекции Крымской ОСС ВИР. Установлен их полиморфизм: из 19 компонентов спектра легкорастворимых запасных белков, обычно выделяемых у косточковых культур, в семенах данного вида обнаружено только 9. Определены средние значения компонентов с относительной электрофоретической подвижностью семи белков, спектр которых выражен интенсивно. Идентифицированы ассоциации между индивидуальными компонентами выявленных белков. При этом их корреляционная зависимость на достоверном уровне высокая: от –70 % до +78 %.

Ключевые слова: микровишня простёртая, легкорастворимые, запасные белки, семя, корреляция, сопряжённость.

Накопление полученных данных и их обработка по изучению и оценке генофонда плодовых культур позволяют создавать электронные базы сведений о генетических коллекциях. В последние годы всё яснее осознаётся недостаток изучения только морфологических признаков растений, поскольку уровень проявления большинства из них варьирует в значительной степени под влиянием внешних условий, вследствие

чего часто лучшие формы, отобранные при благоприятном стечении экологических факторов, в «средние» и экстремальные годы оказываются худшими.

Генетическая паспортизация может проводиться с использованием различных методов [1]. Важное значение приобретает молекулярное ДНК-маркирование [2]. При создании информационных систем генофонда имеет значение и концентрация других сведений. Например, значение комплексного состава полиморфных белков, которые сопряжены с различными биолого-морфологическими признаками. В пользу действительности такой корреляции свидетельствует анализ динамики белков в истории селекции пшеницы [7]. Проводить анализ кодируемых генами (кластерами генов) белков значительно легче, чем изучение белковых систем. Электрофорез позволяет определить весь их полиморфизм и идентифицировать различные ассоциации. Одним из первых продуктов экспрессии генов являются запасные белки, данные о которых могут быть использованы для дифференциации различных растительных сообществ, например, персика [6]. Исходя из вышесказанного, необходимость проведения исследований белков у различных видов растений неоспорима.

Цель исследований: выявить компонентный состав легкорастворимых белков семени и структуру их корреляции коллекционных видообразцов микровишни простёртой (*Microcerasus prostrata* (Labill.) M. Roem.).

Объекты и методы. Работа выполнена в филиале Крымская ОСС ВИР. Изучение морфобиологических признаков 79 коллекционных образцов вида микровишни простёртой показало широкий спектр их изменчивости [5]. Это самый молодой в эволюционной цепи секции *Amygdalocerasus* аллополиплоидный вид рода *Microcerasus* Webb. emend Spach. [3]. Высокая полиморфность вида обусловлена природно-климатическими условиями его произрастания. Многообразие форм велико, что даёт основание многим исследователям выделять из его состава ряд самостоятельных видов или разновидностей. Например, по степени опушения нижней поверхности листа различают разновидности: var. *bifrons* (Fritsch) Erem. et Yushev, var. *tianshanica* (Pojark.) Erem. et Yushev, var. *verrucosa* (Franch) Erem. et Yushev [3].

Растения этих разновидностей обладают такими ценными для селекции косточковых культур признаками, как карликовость, засухо- и жаростойкость, позднее цветение, раннее созревание плодов, отсутствие периодичности в плодоношении [3, 5]. Эти признаки определяют возрастающий к ним интерес селекционеров.

В наши исследования были включены четыре формы var. *bifrons*, три – var. *tianshanica* и восемь – var. *verrucosa*. Работа выполнена по «Программе и методике изучения сортов коллекции плодовых, ягодных,

субтропических, орехоплодных культур и винограда» (ВИР, 1970). Биохимические анализы проводились по общепринятым методикам [4]. Для анализа полученных данных был применён метод корреляционных плеед [8].

Результаты и их обсуждение. Из косточек извлекалось семя и методом хроматографии производился биохимический анализ его запасных легкорастворимых белков. При выборе белков основывались на том, что в последнее время установлено: белки семян отличаются полиморфизмом и могут служить эффективными генетическими маркерами. Из-за сложности их идентификации в наших исследованиях ограничились лишь полученными номерами компонентного состава белков, что вполне достаточно на данном этапе для оценки и выявления структуры корреляций, выделенных легкорастворимых белков вида *M. prostrata*.

В результате электрофореза установлен их полиморфизм: из 19 компонентов спектра легкорастворимых запасных белков, обычно выделяемых у косточковых культур, в семенах данных видов обнаружено только 9. В таблице 1 отражено наличие (+) или отсутствие (–), причём их порядковые номера соответствуют номерам в корреляционном анализе данных белков.

Таблица 1

**Результаты электрофореза
легкорастворимых запасных белков вида *M. prostrata***

Номер компонента белкового спектра с ОЭП* и их порядковые номера																		
1	1'	1''	2	2'	2''	2'''	2''''	3	3'	3''	3'''	4	4'	5	5'	6	7	7'
+	+	–	+	–	–	–	–	+	+	+	–	+	–	+	–	+	–	–
№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12	№ 13	№ 14	№ 15	№ 16	№ 17	№ 18	№ 19

Примечание: ОЭП* – относительная электрофоретическая подвижность;
+ – наличие; – – отсутствие

Из таблицы видно, что среди запасных белков у исследуемого вида отсутствуют белки со следующими обозначениями (под номерами): 1' (№ 3), 2' (№ 5), 2'' (№ 6), 2''' (№ 7), 2'''' (№ 8), 3'' (№ 12), 4' (№ 14), 5' (№ 16), 7 (№ 18), 7' (№ 19). Обнаружено, что средние компоненты с относительной электрофоретической подвижностью (ОЭП) легкорастворимых запасных белков семян имеют различные спектры. Выделены те из них, спектр которых выражен наиболее сильно и определены их значения при $\ell = 5,5-6,4$. Это: 1 (№ 2) = 4,1; 2 (№ 4) = 23,5; 3 (№ 9) = 28,6; 3' (№ 10) = 30,24; 4 (№ 13) = 43,5; 5 (№ 15) = 58,8; 6 (№ 17) = 69,1.

На основе полученных данных, учитывая количественное содержание легкорастворимых белков у *M. prostrata* было построено схематическое изображение связей между отдельными белками (рис. 1).

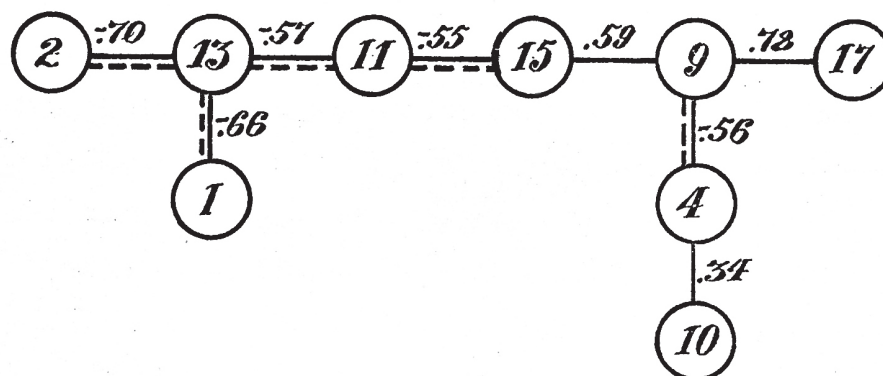


Рис. 1. Структура корреляций легкорастворимых запасных белков семени *M. prostrata*

По результатам корреляционного анализа видно наличие очень высокого уровня сопряженности между отдельными номерами компонентного состава легкорастворимых белков семян. В большинстве случаев эта зависимость обратная, причём на очень высоком достоверном уровне: от -55 до -70 %. В частности, компонент с порядковым номером 13 находится в обратно пропорциональной зависимости – под № 2 (на уровне минус 70 %), № 1 (минус 66 %), № 11 (минус 57 %), в свою очередь последний, № 11, с № 15 (минус 55 %), а № 9 – с № 4 (минус 56 %). Данные порядковые номера принадлежат номерам компонентного состава запасных легкорастворимых белков, отдалённых друг от друга участков белкового спектра. Прямо пропорциональная зависимость имела место между № 15 и № 9 (59 %), № 9 и № 17 (78 %), № 4 и № 10 (34 %). Схема ассоциаций между индивидуальными компонентами белков дала возможность определить «центральные»: 3 – порядковый № 9 и 4 – порядковый № 13, которые, по-видимому, являются наиболее значимыми для дальнейших анализов.

Заключение. В результате работы получены данные о составе запасных легкорастворимых белков семян образцов вида *M. prostrata*, входящих в него вариаций: var. *bifrons*, var. *tianshanica* и var. *verrucosa* из коллекции Крымской ОСС ВИР. С помощью электрофореза выявлен состав исследуемых белков. Определены средние значения компонента с относительной электрофоретической подвижностью (ОЭП) семи

белков, спектр которых выражен наиболее сильно: от 1 (№ 2) = 4,1 до 6 (№ 17) = 69,1 (при $\ell = 5,5-6,4$).

Получена корреляционная схема между индивидуальными компонентами белков. Это позволило выявить достоверно высокое их сопряжение как прямой от 34 до 78 %, так и обратной зависимости от 55 до 70 %. Центральное место занимают № 13 и № 9, спектр которых выражен достаточно сильно и соответствует значениям 43,5 и 23,6.

Состав запасных легкорастворимых белков вида *Microcerasus prostrata* позволяет проводить дальнейшие исследования, которые послужат одним из приёмов картирования и идентификации генов.

Библиографический список

1. Высоцкий В.А., Арклис О.В., Цветков И.Л. Совершенствование подхода к идентификации косточковых культур // Садоводство и виноградарство. – 2007. – № 2. – С. 19-21. – ISSN: 0235-2591.
2. Гостимский С.А., Кокаева З.Г., Боброва В.К. Использование молекулярных маркеров для анализа генома растений // Генетика. – 1999. – Т. 35. – С. 1538-1549. – ISSN PRINT: 1022-7954.
3. Ерёмин Г.В. Отдалённая гибридизация косточковых плодовых растений – М.: Агропромиздат, 1985. – 280 с.
4. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И. Методы биохимического исследования растений – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
5. Коваленко Н.Н. Потенциал генофонда видов родов *Microcerasus* Webb. emend Spach. и *Cerasus* Mill. и его использование в селекции косточковых культур: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Краснодар, 2014. – 47 с.
6. Кравцова Т.А., Гаврилюк И.П., Акимов Ю.А., Денисов В.П. Дифференциация рода *Persica* по белкам семян // Докл. ВАСХНИЛ. – 1983. – № 10. – С. 30-32.
7. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции / под ред. Л.И. Корочкина. – М.: Наука, 1985. – 272 с.
8. Терентьев П.В. Метод корреляционных плеяд // Вести ЛГУ Сер. биол. – 1959. – Т. 9. – С. 137-141.

ANALYZING EASY-SOLUBLE SPARE PROTEINS IN SEEDS OF GENETICALLY VARIOUS VARIETIES OF *MICROCERASUS PROSTRATA* (LABILL.) M. ROEM.

Kovalenko N. N., Polovyanov G. G.

Branch Krymsk Experimental-Breeding Station
of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Centre Russian Institute
of Plant Genetic Resources named after N. I. Vavilov",
с. Krymsk, Russia, e-mail: kross67@mail.ru

The paper presents a biochemical analysis of easy-soluble spare proteins in seeds of one of microcherry species (*Microcerasus* Webb. emend Spach.) – *M. prostrata*

(Labill.) M. Roem., variation var. *bifrons*, var. *tianshanica*, var. *verrucosa*, collected at Krymsk Experimental-Breeding Station. Their polymorphism was established: among from 19 components of the spectrum of easy-soluble spare proteins, usually found in stone cultures, only 9 were found in seeds of this species. There were determined average values of the components with relative electrophoretic mobility of seven proteins, whose spectrum is expressed intensively. The associations between the individual components of the revealed proteins were identified. At the same time, their correlation dependence at a reliable level is high: from -70% to $+78\%$.

Key words: *M. prostrata* (Labill.) M. Roem., easy-soluble, spare proteins, seed, correlation, conjugation.