

ЗАПАСНІ БІЛКИ ЯК УНІВЕРСАЛЬНИЙ МАРКЕР ІДЕНТИФІКАЦІЇ ГЕНОТИПІВ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ РОСЛИН

Ідентифікація генотипу рослини є першочерговим етапом будь-якого дослідження. Актуальність цієї процедури справджується як з теоретичного так і з практичного боків. Як частина експериментального дослідження ідентифікація необхідна при плануванні кожної гібридизації. Як частина промислового виробництва ідентифікація забезпечує якість отриманого продукту. Отже, встановлення генетичної однорідності (поліморфності) рослини необхідно як для самозапилюючих так і перехреснозапилюючих культур.

Одним із сучасних методів лабораторного контролю насіння є електрофорез запасних білків з огляду на його простоту, інформативність, невелику вартість. Запасні білки інтенсивно синтезуються в процесі розвитку насіння. Їхній гетерогенний склад визначається генотипом і не залежить від умов вирощування культури, генетично закріплений у ряді поколінь [1]. Однак, як будь-який метод електрофорез запасних білків потребує певних модифікацій для конкретного виду рослин.

Метою даної роботи було встановлення ефективності застосування електрофоретичного спектра запасних білків при ідентифікації сортів та гібридів сільськогосподарських культур.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження слугували зразки сортів ярого ячменю і комерційних гібридів сояшнику та кукурудзи. Всі зразки були отримані від сільськогосподарських підприємств та фірм з різних областей України. З кожного зразка довільно відбирали 100 зерен в кожному з яких аналіз запасних білків (горденів а), геліантинінів б), зеїнів в)) проводили методом електрофорезу:

а) Аналіз спектра горденів.

Основні каталоги алелей горденів створено, базуючись на їх розділенні в крохмальному гелі (Поморцев, 1985; Созинов, 1985). Нами було залучено метод розділення гордеїнів у ПААГ за методикою Бжезинського [2], що дав чіткий поділ компонентів. На відміну від методу розділення гордеїнів у ПААГ Поперелі і Можаренко [3], запропонований нами метод має ряд переваг,

бо не потребує використання такої токсичної речовини, як меркаптоетанол, кількакратного відмивання шроту спиртом, кип'ятіння проб тощо. При підготовці до проведення електрофорезу, ми подрібнювали зерно ячменю не звільняючи його від плівки, а для вирівнювання границі між двома гелями користувались дистильованою водою замість бутанолу;

б) Аналіз спектра геліантинінів.

Фракціонування геліантинінів сояшнику проводили за методиками Поперелі та ВІР [4,5]. Для отримання чітких та якісних спектрів запасних білків сояшнику, перед виконанням електрофорезу геліантинінів, досліджували та модифікували деякі ділянки стандартного методу. Вивчали вплив різних речовин на знежирення шроту. Виявили, що чіткі та контрастні спектри можна отримати і без знежирювання (рис. 4);

в) Аналіз спектра зеїнів.

Зеїн, як запасний білок кукурудзи, цілком відповідає базовим вимогам до маркерних ознак, оскільки є поліморфним внаслідок наявності множинного алелізму, має стабільну відтворюваність електрофоретичного спектра. Виділення та електрофорез зеїну проводили за методом Асики – Поперелі [6], з деякою модифікацією відповідно до наших умов а саме: збільшили експозицію екстракції зеїну, застосували удосконалену, універсальну фарбу для гелів. Склад фарби: Кумасі R-250–300 мг, етиловий спирт – 70 мл, ацетон – 100 мл, льодяна оцтова кислота – 60 мл, трихлор-оцтова кислота – 60 мл, дистильована вода – до 1 літра.

Результати та обговорення

У 2014 році було проаналізовано на сортову чистоту 359 зразків зерна пивоварного ячменю, 17 та 79 відповідно зразків насіння сояшнику та кукурудзи (рис. 1).

На аналіз до лабораторії у 2014 році надходили лише сорти ячменю іноземної селекції: Себастьян 32 %, Ксанаду 31 %, Беатріс 19 %, Вінт-мальт 9 %, Кангу 4 %, Шармай 3 % та Квенч 2 % (рис. 2).

Серед проаналізованих нами зразків ячменю лише 35% відповідали оригіналу сорту, реш-

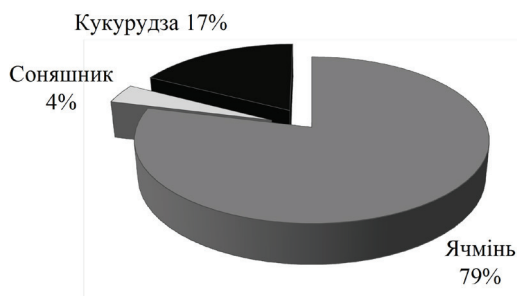


Рис. 1. Структура проведених аналізів у розрізі с/г культур

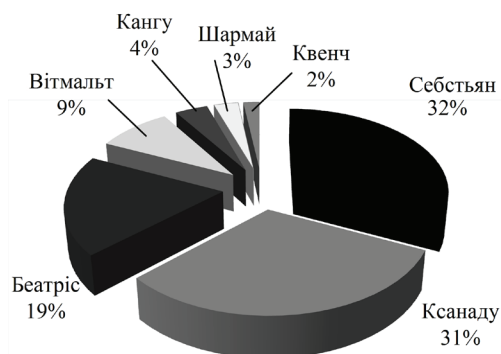


Рис. 2. Популярність сортів ячменю при виробництві солоду

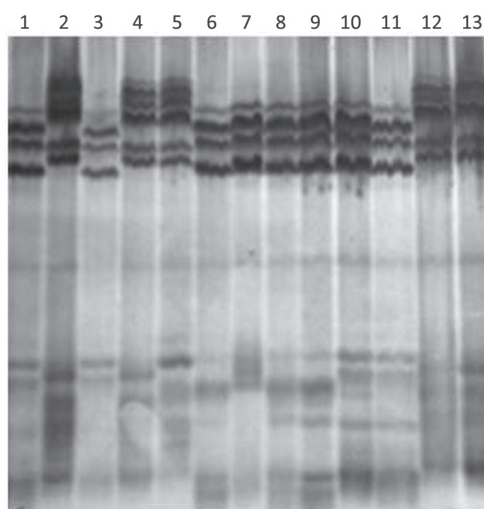


Рис. 3. Електрофореграма сортосуміші зерна ячменю (1, 3, 10, 11 – Себстьян; 2, 4, 12, 13 – Ксанаду; 5 – Барке; 6, 8, 9 – Кангу; 7 – Джерзей)

та виявилися гетерогенними, що було результатом засмічення (рис. 3).

Аналіз сортової чистоти зразків виявив загрозливу тенденцію для селекції пивоварного ячменю в Україні. Залучення нових технологій пивоваріння та інвестицій закордонних компаній призводить до поширення і домінування сортів іноземної селекції.

Проведені нами дослідження показали що, деякі сорти ячменю не відрізняються між собою за спектрами гордеїнів. Їх можна розділити лише за електрофорезом альбумінів. Це є наслідком об'єктивного процесу звуження генетичної різноманітності в результаті селекційної діяльності людини [7].

Як приклад спектра перехреснозапильних рослин вивчали спектри запасних білків соняшнику та кукурудзи.

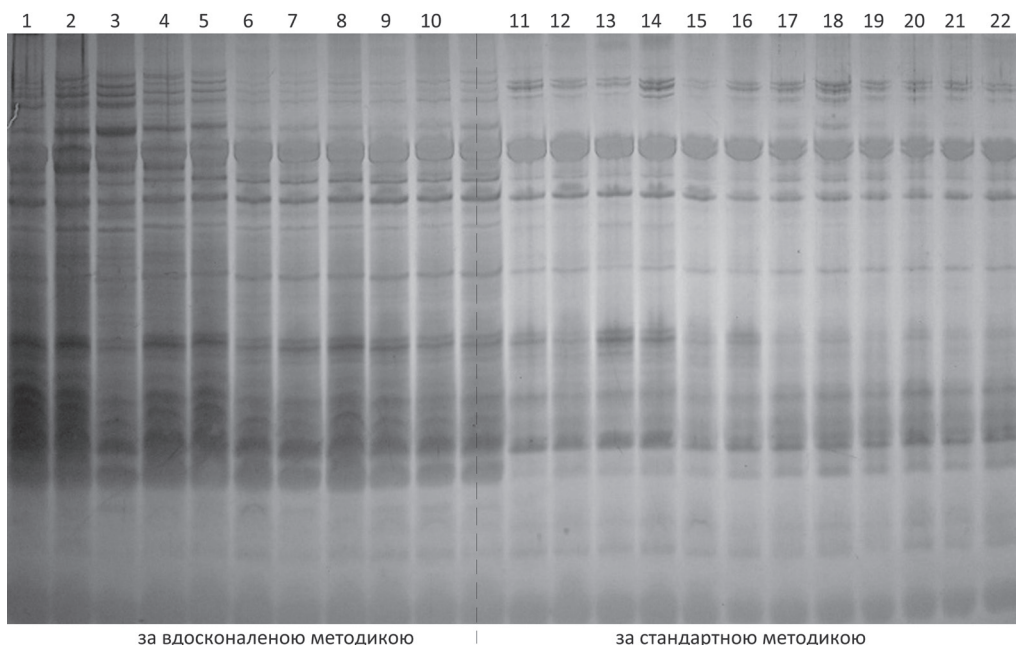


Рис. 4. Електрофореграма геліантиніна соняшнику

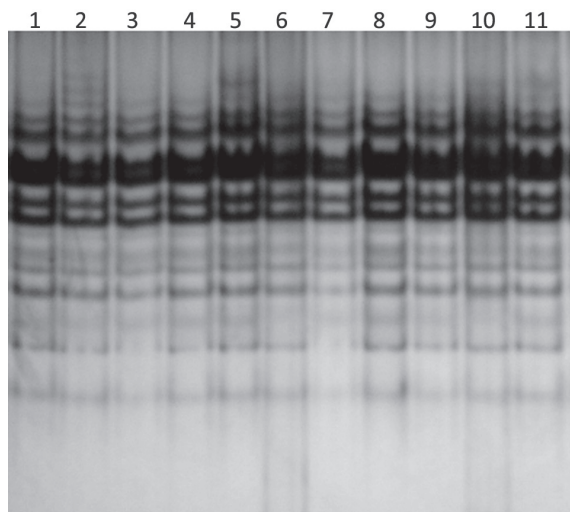


Рис. 5. Електрофореграма зеїна кукурудзи гібриду Інауга

Генетична однорідність – найважливіша характеристика гібридного насіння F_1 комерційних гібридів соняшнику та кукурудзи. Оскільки компонентна структура запасних білків насіння точно відображає характер впливу певного блоку генів, вона може бути критерієм ідентичності оцінюваних гібридів. Функціональна цінність таких спектрів визначається якістю отримуваних

електрофореграм та можливістю їх швидкого однозначного оцінювання. На рис. 4 і 5 наведено електрофореграми спектрів геліантинів та зеїнів комерційних гібридів соняшнику та кукурудзи. Прослідковується очевидна генотипова різниця.

Таким чином, освоєно, підібрано та модифіковано ряд методик розділення запасних білків samozапильних сортів та перехреснозапильних гібридів сільськогосподарських культур.

У час виходу України з насінницькою продукцією на європейський і світовий ринок, у час впровадження сортів та гібридів нового покоління з цінними сортовими і посівними показниками, важливо зберігати чистоту і відповідність сортів, гібридів. Від цього залежить урожайність, технологічна і харчова цінність отриманої продукції.

Висновки

Отримані спектри запасних білків ячменю, гібридів соняшнику, кукурудзи можуть бути використані як маркери в цілях ідентифікації.

Оптимізовані методики забезпечують отримання чітких результатів і рекомендовані для проведення масових лабораторних аналізів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Конарев В.Г. Проблемы современной биологии и селекции // Теоретические основы селекции. – М., 1993. – 1. – С. 7–27.
2. Brzezinski W., Mendelenski P., Improved PAGA procedure for identification of wheat, triticale, barley and cultivar // XII Eucarpia Congress. – Göttingen, 1989. – 28 – P. 2.
3. Попереля Ф.А., Можаренко М.Н. Генетическая классификация гордеинов с помощью электрофореза в ПААГ // Цитология и генетика. – 2001. – 35, № 5. – С. 20–24.
4. Идентификация, анализ и регистрация сортов, линий и гибридов подсолнечника методом электрофореза гелиантина. Метод. Указания / Под ред. И.П. Гаврилюк. – Л.: ВИР, 1988. – 23 с.
5. Попереля Ф.О. Генетична інтерпретація електрофореграм геліантину насіння F_1 соняшнику // Цитология и генетика. – 2000. – 34, № 2. – С. 84–90.
6. Попереля Ф.А., Аська Ю.А. Методические указания по электрофорезу зерна кукурузы для определения процента гибридности семян F_1 . – М., 1988. – С. 4–6.
7. Сірант Л.В., Дикун М.О., Починок В.М., Завальна Г.В. Ідентифікація білкових спектрів пивоварних сортів ячменю // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. / Під ред. В.А. Кунаха [та ін.]. – К.: Логос, 2013. – 12. – С. 306–309.

SIRANT L.V., DYKUN M.O., ZAVALNA G.V.

Institute of Plant Physiology and Genetics,

Ukraine, 03022, Kyiv, Vasilkivska str., 31/17, e-mail: bal.mascha@yandex.ua

IDENTIFICATION BY ELECTROPHORETIC SPECTRA OF STORAGE PROTEINS VARIETIES AND HYBRIDS OF PLANTS

Aims. Identify electrophoretic spectras of polymorphism hordeyin, zein and helianthin. **Methods.** Methods electrophoretic separation of storage proteins in poliakrilamid gel. **Results.** Identified barley varieties and typicality hybrids of sunflower and maize. Selected for each crop of storage proteins electrophoresis techniques and optimized some parts of this techniques. Performed for differentiation barley varieties with similar spectra albumin's electrophoresis. Foreign malting barley varieties are higher than domestic varieties. **Conclusions.** In general, the method of electrophoresis is able to provide good results and can be used for mass analysis.

Keywords: electrophoresis, hordein, helianthin, zein.