

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ
им. В.Ф.КУПРЕВИЧА НАЦИОНАЛЬНОЙ
АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»**

Д 01.38.01

УДК [581.4+581.1]+581.19+581.15:633.37

Морозова Инна Михайловна

**МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ВНУТРИВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ
ГАЛЕГИ ВОСТОЧНОЙ (*GALEGA ORIENTALIS* LAM.)**

03.00.12 - Физиология и биохимия растений

03.00.05 - Ботаника

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

МИНСК – 2006

Работа выполнена в лаборатории роста и развития растений ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси» и в отделе биохимии и биотехнологии растений ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»

Научные руководители: академик, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией роста и развития растений ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси»

ЛАМАН Николай Афанасьевич

академик, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом биохимии и биотехнологии растений ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»

РЕШЕТНИКОВ Владимир Николаевич

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории флоры и систематики растений ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси»

ДМИТРИЕВА Софья Александровна

кандидат биологических наук, доцент, заведующая лабораторией прикладной биофизики и биохимии ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»

КАБАШНИКОВА Людмила Федоровна

Оппонирующая организация: УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита состоится « 25 » апреля 2006 г. в 14⁰⁰ часов на заседании Совета по защите диссертаций Д 01.38.01 в ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси» по адресу: 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27. тел/факс: (017)-284-18-53

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке им. Я. Коласа НАН Беларуси.

Автореферат разослан «__» марта 2006 г.

Ученый секретарь
Совета по защите диссертаций
кандидат биологических наук

Т.Ф. Сосновская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. В последние десятилетия в мире возрос интерес к галеге восточной (*Galega orientalis* Lam.) как перспективной высокобелковой кормовой культуре, которая по ряду хозяйственно-ценных признаков превосходит традиционные кормовые бобовые травы. Галега восточная характеризуется высокой биологической продуктивностью, устойчивостью к болезням и вредителям, зимостойкостью и морозостойкостью, высокими кормовыми качествами, хорошей поедаемостью кормов животными, многолетностью использования. Без пересева галега восточная в травостое может сохраняться до 30 лет — такого продолжительного периода использования не имеет ни одна другая бобовая культура. Еще одним преимуществом галеги восточной, по сравнению с традиционными бобовыми культурами клевером и люцерной, является стабильная семенная продуктивность и раннее созревание семян. За счет симбиотической азотфиксации галега не только удовлетворяет свои потребности в азоте, но и накапливает его в значительном количестве в почве (Г.С. Посыпанов, 1990; А.Н. Кшникаткина, 2001).

Несмотря на то, что галега восточная является эндемиком Кавказа, до настоящего времени мало внимания уделялось всестороннему исследованию исходного материала данной культуры. Известно, что перспективным направлением в решении этой задачи является максимальное привлечение и изучение различных популяций вида (Х.А. Райг, 1984, В.П. Мишуров и др., 1991). К тому же вид, обладая той или иной степенью внутривидовой изменчивости, содержит ряд форм, которые могут быть интересными для селекционной работы (А.Т. Федорук, 2001). До последнего времени в производстве использовался практически один сорт галеги восточной — сорт Гале, выведенный в Эстонском научно-исследовательском институте земледелия и мелиорации и районированный по СССР в 1987 году. Поэтому весьма актуальной является задача выведения новых сортов с улучшенными количественными и качественными характеристиками, адаптированных к различным почвенно-климатическим условиям. В связи с этим изучение внутривидового разнообразия галеги восточной, в первую очередь различных образцов из мест естественного произрастания, по фенологическим, морфофизиологическим и биохимическим признакам представляет несомненный теоретический и практический интерес.

Связь работы с крупными научными программами, темами. Диссертационная работа выполнялась в рамках задания 01.16 ГНТП "Агропромкомплекс 2005" «Разработать и освоить энерго- и ресурсомалозатратные технологии возделывания высокобелковых кормовых

культур, новых интродуцированных культур (галега восточная, донники, амарант) и их смесей», № ГР 20023198, 2002–2005 гг.

Автор работы в 2003 году получила грант Национальной академии наук Беларуси для аспирантов на выполнение научно-исследовательской работы.

Цель и задачи исследования. Учитывая хозяйственное значение галеги восточной, целью работы является изучение и оценка внутривидового разнообразия этой перспективной культуры по комплексу морфофизиологических и биохимических показателей, выявление перспективного исходного материала для селекции.

Задачи исследования:

- проанализировать морфофизиологическую изменчивость растений ряда неселекционных образцов галеги восточной по основным фенологическим и морфофизиологическим признакам, в том числе по накоплению биомассы и семенной продуктивности;
- провести анализ содержания сухого вещества, фотосинтетических пигментов, различных форм азота и белка в биомассе морфотипов неселекционных образцов и сорта Гале;
- дать биохимическую характеристику запасным белкам семян исследованных морфотипов неселекционных образцов и сорта Гале с использованием белковых маркеров;
- выявить наиболее перспективные морфотипы по комплексу морфофизиологических и биохимических признаков для использования в селекции галеги восточной и создания коллекционного материала.

Объекты и предмет исследования. Объектами исследования служили растения пяти неселекционных образцов. В качестве контроля использовали районированный сорт Гале.

Предметом исследования явилось изучение особенностей роста и развития растений, обоснование разделения их на морфотипы по морфофизиологическим и биохимическим признакам.

Гипотеза. Предполагали наличие внутривидового разнообразия у галеги восточной как перекрестноопыляемой культуры по ряду хозяйственно-ценных признаков, изучение которого позволит выделить морфотипы для использования их как исходного материала в селекции.

Методология и методы проведения исследования. Работа выполнена путем постановки лабораторных и полевых опытов. В исследованиях использовались современные физиологические и биохимические методы (определение содержания белка, пигментов, электрофорез в ПААГ) и др. При изучении кариотипов применяли общепринятую цитологическую методику. Для анализа внутривидового разнообразия проводили кластерный анализ с использованием компьютерной программы ESPSS. Достоверность полученных экспериментальных данных

подтверждена методами биологической статистики с использованием программы Microsoft Excel.

Научная новизна и значимость полученных результатов. Проведенные исследования позволили охарактеризовать внутривидовое разнообразие галеги восточной по ряду хозяйственно-ценных признаков.

- Исследованы особенности роста и развития растений галеги восточной в первый год жизни, что позволило предложить универсальную шкалу фенологических фаз роста и развития этой культуры.
- Выявлено и охарактеризовано внутривидовое разнообразие растений исследованных образцов по фенологическим признакам. Впервые выделены и описаны по срокам весеннего отрастания, цветения и плодоношения следующие хроноотипы: очень ранние, ранние, средние, поздние и очень поздние.
- На основе кластерного анализа морфофизиологических признаков растений выделены четыре морфотипа галеги восточной: высокорослый, среднерослый, низкорослый, низкорослый незимостойкий. Определена частота встречаемости каждого морфотипа.
- Исследована изменчивость морфотипов по семенной продуктивности, оценена их потенциальная и реальная семенная продуктивность, процент семинификации.
- Дана биохимическая характеристика морфотипов по накоплению сухого вещества, фотосинтетических пигментов, азота и белка.
- Впервые охарактеризован качественный и количественный состав запасных белков семян у выделенных морфотипов галеги восточной, что позволило подтвердить их различия на биохимическом уровне.
- Выделены наиболее перспективные для использования в селекции морфотипы образцов галеги восточной по вышеперечисленным признакам.

Практическая значимость полученных результатов. Выявлены морфотипы с высокой продуктивностью зеленой массы и семян, повышенным содержанием сухого вещества, общего азота и белка, перспективные как исходный материал в селекции.

Подготовлены и изданы рекомендации по технологии возделывания галеги восточной на корм и семена (Н.А. Ламан, В.Н. Прохоров, И.М. Морозова, 2003, 2004) и отраслевые регламенты (Н.А. Ламан, В.Н. Прохоров, И.М. Морозова, 2005), одобренные Научно-техническим советом Главного управления растениеводства Минсельхозпрода Республики Беларусь. Совместно с Гомельским КСУП «Семена трав» и Полесским филиалом ИЗиС НАН Беларуси в хозяйствах Гомельской области заложены плантации галеги восточной площадью более 1000 га (Акт внедрения от 26 ноября 2004 г.).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- Наличие у галеги восточной разнообразия по ряду фенологических, морфофизиологических признаков, в том числе по накоплению биомассы и семенной продуктивности.
- Проявление внутривидового разнообразия на биохимическом уровне в условиях Беларуси, в том числе по составу запасных белков семян.

Личный вклад соискателя. Результаты проведенных исследований выполнены автором самостоятельно, под руководством доктора биологических наук Н.А. Ламана и доктора биологических наук В.Н. Решетникова. Экспериментальные материалы, представленные в соответствующих разделах диссертационной работы, получены автором лично на основании исследований, проводимых с 2000 года. Выбор условий экспериментов, анализ, интерпретация результатов проведены соискателем самостоятельно. Всем коллегам автор выражает искреннюю благодарность.

Апробация результатов. Основные результаты работы доложены на научно-практической конференции «Антропогенная динамика ландшафтов и проблемы сохранения и устойчивого использования биологического разнообразия» (Минск, 2001 г.); на II-й, III-й и IV-й Международных научных конференциях «Регуляция роста, развития и продуктивности растений» (Минск, 2001, 2003, 2005 гг.); Международной научной конференции, посвященной 70-летию со дня основания ЦБС «Ботанические сады: состояние и перспективы сохранения, изучения, использования биологического разнообразия растительного мира» (Минск, 2002 г.); VI Международной научно-практической конференции «Интродукция нетрадиционных и редких сельскохозяйственных растений» (Ульяновск, 2002 г.); VII Республиканской научной конференции студентов и аспирантов Беларуси «НИРС-2001» (Витебск, 2002 г.); VI Международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Пушино, 2005 г.); Международной конференции, посвященной 60-летию Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина: "Ботанические сады как центры сохранения биоразнообразия и рационального использования растительных ресурсов" (Москва, 2005 г.).

Опубликованность материалов исследований. Основные положения, изложенные в диссертационной работе, освещены в 2 рекомендациях и 2 отраслевых регламентах, в 3 статьях в научных журналах, в 5 статьях в научных сборниках и 5 тезисах докладов научных конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследований, трех экспериментальных глав, выводов и списка литературы, включающего 196 наименований, в том числе 40 иностранных источников, приложения. Работа изложена на 132 страницах машинописного текста, включая таблицы и рисунки.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы. Проанализированы основные направления в изучении внутривидовой изменчивости у растений. О наличии внутривидовой изменчивости галеги восточной впервые было упомянуто в работах Е. Метлицкой (1992). Однако детальный анализ её внутривидовой структуры не проводился.

Объекты и методы исследования. Работа выполнялась в течение 2000-2004 гг. в лаборатории роста и развития растений ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», а также в отделе биохимии и биотехнологии растений ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси».

Основными объектами служили растения пяти неселекционных образцов галеги восточной. В качестве контроля использовали районированный сорт Гале, который выведен путем массового отбора в Эстонском институте земледелия и мелиорации.

Полевые мелкоделяночные опыты закладывали на опытном поле Института земледелия и селекции НАН Беларуси в Смолевичском районе Минской области на протяжении 2001–2003 годов. По количеству выпавших осадков и температуре воздуха 2001 и 2003 годы для галеги восточной были благоприятными, 2002 год — засушливым.

Фенологические наблюдения проводили по методике (И.Н. Бейдеман, 1974). Потенциальную и реальную семенную продуктивность, процент семинафикации изучали по общепринятой методике (И.В. Вайнагий, 1974; Р.С. Левин, 1981).

Изучение разнообразия формы 1-го листочка в 4-м сложном листе на побеге проводили по показателю соотношения его длины к ширине (Ботаника. Морфология и анатомия растений, 1988). Оценка кариотипа морфотипов галеги восточной осуществляли на временных давленных препаратах (А.Ю. Магулаев, 1974).

Биохимические показатели изучали в первый год жизни галеги в фазе кущения, во второй и третий — в фазе плодоношения. Определение фотосинтетических пигментов проводили спектрофотометрическим методом (А.А. Шлык, 1971), содержание общего, белкового, небелкового азота, суммарное содержание белка по стандартным методам (Н.Н. Плешков, 1968). Электрофорез запасных белков семян проводили в полиакриламидном геле (ПААГ) по методу (U.K. Laemmly, 1970). При обработке результатов электрофоретического разделения использовали лазерный денситометр «Ультраскан-202» фирмы LKB и специализированную программу для ПЭВМ (Sigma Gel, Германия).

Количественное содержание белка определяли по методу Бредфорда (Bradford M.M., 1976).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Внутривидовое разнообразие галеги восточной по фенологическим признакам

В каждом неселекционном образце и сорте Гале галеги восточной по срокам весеннего отрастания, цветения, плодоношения были выделены следующие хроно-типы: очень ранние, ранние, средние, поздние, очень поздние. Процентный состав хроно-типов по срокам начала и окончания весеннего отрастания, начала и окончания цветения, начала и окончания созревания в каждом образце различен. Наименьшую долю в образцах составляли крайние хроно-типы: очень ранние и очень поздние. Более половины растений представлены хроно-типами со средним значением фенологического признака.

Таким образом, изучение внутривидовой изменчивости галеги восточной по фенологическим признакам позволило выявить хроно-типы по срокам весеннего отрастания, цветения, плодоношения, которые могут быть исходным материалом для селекции.

Морфофизиологическая характеристика морфотипов галеги восточной

Для анализа морфологического разнообразия проводили кластерный анализ растений галеги восточной из выборок всех образцов по значениям 25 морфофизиологических параметров по трем годам исследований с использованием компьютерной программы ESPSS.

В основу выделения кластеров были положены показатели, характеризующие продуктивность: масса побега, количество семян на побеге, масса семян с 1-го побега. В процессе анализа выделены четыре кластера, которые рассматриваются в дальнейшем как четыре группы морфотипов галеги восточной. В ходе анализа установлено, что с показателями продуктивности наиболее тесно коррелировала высота растений, поэтому выделенные морфотипы названы: высокорослый, среднерослый, низкорослый, низкорослый незимостойкий. Следует отметить, что растения 4-й группы оказались незимостойкими. Они вымерзли в первую зиму, поэтому на 2-м и 3-м году жизни растений галеги изучали только три первые группы морфотипов.

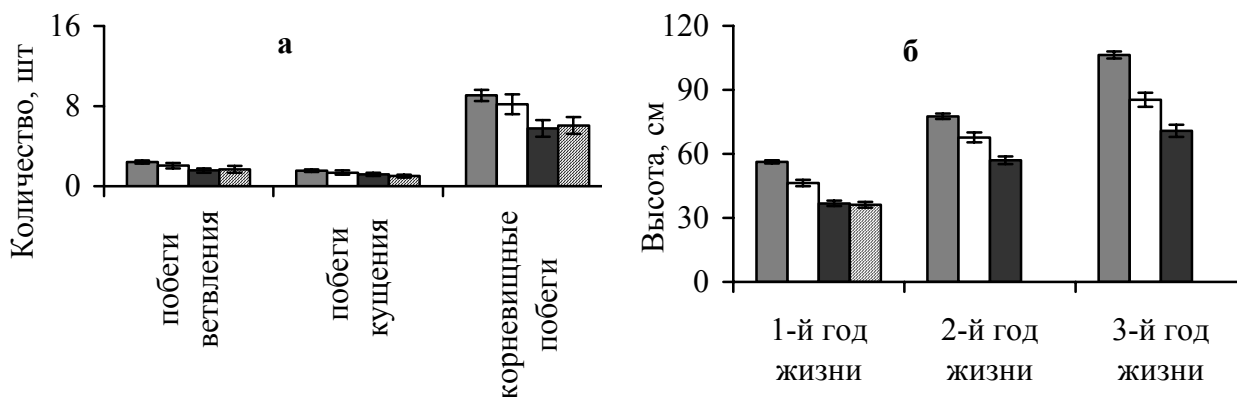
На первом году жизни темпы роста у растений всех морфотипов невысокие. Самые большие приросты отмечены в фазу кущения. К концу сентября при средне-суточных температурах 10 С° и ниже рост растений прекращается. Во второй год жизни отрастание растений галеги восточной началось в конце второй декады апреля. На третий год, в связи с холодной весной, весеннее отрастание отмечено в середине первой декады мая. Высота побегов и скорость роста морфотипов в третий год жизни были выше, чем во 2-й год жизни. В фазу бутонизации

высота растений колебалась от 50,0 см у низкорослого до 60,0 см у высокорослого морфотипов. На третий год, также как и во второй, на данной фазе отмечена максимальная скорость роста.

Таким образом, максимальная скорость роста растений первого года жизни наблюдалась в фазе кущения, а в последующие годы — в фазе бутонизации.

Особенности продукционного процесса морфотипов галеги восточной

В первый год жизни наибольшее количество побегов ветвления отмечено у высокорослого и среднерослого морфотипов (рис. 1 а).



■ —высокорослый морфотип, □ — среднерослый морфотип, ■ — низкорослый морфотип, ▨ - низкорослый незимостойкий морфотип.

Рис. 1. а — количество побегов ветвления, кущения, корневищ у морфотипов галеги восточной; б — высота побегов у морфотипов.

Количество побегов кущения (фаза кущения) было практически одинаковым и составило от 1-ой шт. у низкорослого незимостойкого до 2-х шт. у высокорослого морфотипа. Наибольшее количество корневищных побегов образовалось у высокорослого и среднерослого морфотипов, соответственно, 9 и 8 штук (рис. 1 а). Это подчеркивает одну из важных биологических особенностей галеги восточной, у которой на первом году жизни основная масса пластических веществ направляется на формирование подземных вегетативных побегов.

При сравнении всех морфотипов по высоте побега показано, что наибольшие значения этого показателя имеют растения высокорослого, а наименьшие — низкорослого морфотипа (рис. 1 б), при этом у растений от первого к третьему году жизни высота побегов возрастает. За период исследований побеги высокорослого и среднерослого морфотипов отличались самыми высокими показателями сырой биомассы (рис. 2 а).

Наибольшее количество листьев на побеге за годы исследований также отмечено у растений высокорослого и среднерослого морфотипов. При этом показано, что облиственность побегов во 2-й и 3-й годы была значительно выше, чем в первый год жизни растений (рис. 2 б).

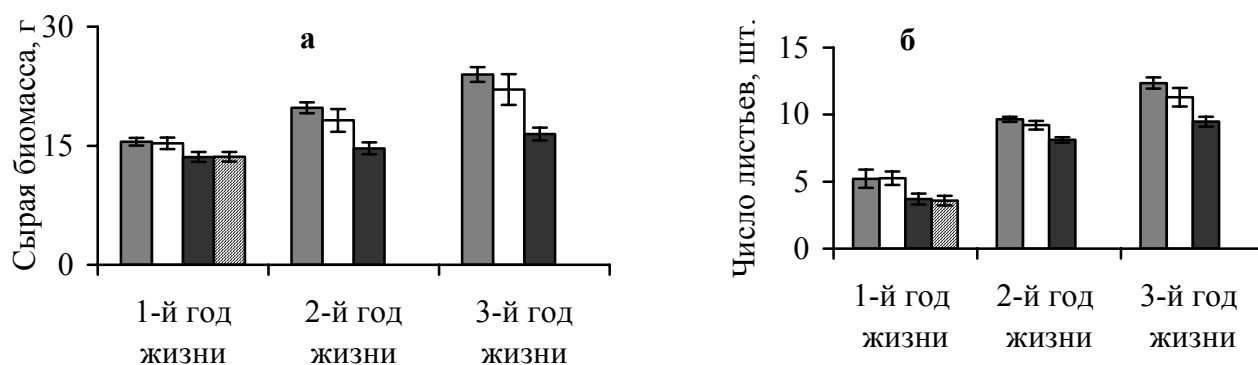


Рис. 2. а — сырая биомасса побегов; б — число листьев на побеге морфотипов
Обозначения как на рис. 1

Таким образом, высокорослый и среднерослый морфотипы рекомендуется нами как перспективные для селекции галеги восточной по биологической продуктивности.

Изменчивость растений галеги восточной по семенной продуктивности

Потенциальная и реальная семенная продуктивность (ПСП и РСП). Процент семинафикации (ПС). Исследования семенной продуктивности выделенных морфотипов показали, что высокорослый морфотип имеет низкие значения ПСП, РСП и ПС, среднерослый морфотип — высокие ПСП и РСП, но среднее значение ПС. В то же время низкорослый морфотип отличается средней ПСП и РСП, но высоким значением ПС (рис. 3 а, б).

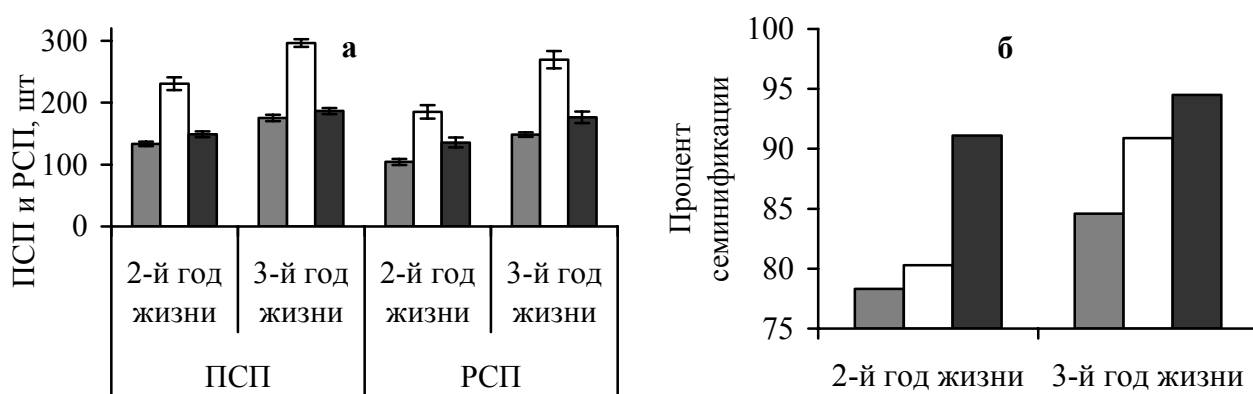


Рис. 3. а — потенциальная и реальная семенная продуктивность; б — процент семинафикации морфотипов галеги восточной
Обозначения как на рис. 1

Изменчивость морфотипов галеги восточной по форме листочка в листовой пластинке

Разнообразие растений по признаку формы листочка (соотношение длины к ширине) условно разделили на три группы: растения с листочками широкояйцевидной формы, яйцевидной и узкояйцевидной формы.

Установлено, что в составе выделенных морфотипов галеги восточной встречаются растения со всеми вышеописанными формами листочка в сложном листе. Чаще всего встречаются растения с яйцевидной формой листочка. Наименее представлены растения с широкояйцевидной формой листочка. Растения с узкояйцевидной формой листочка занимали промежуточное положение. Обнаружена положительная корреляция между яйцевидной формой листочка и облиственностью побега.

Предполагается, что наиболее перспективными в селекции галеги будут морфотипы с яйцевидной формой листочка.

Оценка кариотипа лежит в основе исследований внутривидовой изменчивости. Сравнивали кариотипы корешков проростков морфотипов образцов. В кариотипах обнаружено 8 пар некрупных хромосом. Существенных различий между морфотипами по структуре кариотипа (по числу, величине хромосом) при монохромном окрашивании не выявлено.

При изучении внутривидовой изменчивости важно знать количественные соотношения морфотипов в исследованных образцах. Установлено, что частота встречаемости выделенных морфотипов в различных образцах не одинакова. Преобладающим оказался высокорослый морфотип (таблица). Частота встречаемости растений среднерослого морфотипа меньше, чем высокорослого. Следует отметить, что в группах высокорослых и среднерослых морфотипов не обнаружены растения 4-го неселекционного образца.

Таблица

Частота встречаемости морфотипов в образцах галеги восточной, %

Образец	Морфотипы по высоте растений			
	Высокорослый	Среднерослый	Низкорослый	Низкорослый не-зимостойкий
1	57	26	17	0
2	83	10	7	0
3	23	18	22	37
4	0	0	49	51
5	30	15	33	22
Сорт Гале	73	25	2	0

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОРФОТИПОВ

Содержание сухого вещества. Как известно, сухое вещество растительных кормов является источником энергии для животных.

Максимальное содержание сухого вещества у растений второго и третьего года жизни отмечено у сорта Гале от 39,3% (высокорослый морфотип) до 41,4% (низкорослый морфотип), наименьшее — у высокорослого морфотипа образца 5 от 35,7% (высокорослый морфотип) до 36,1% (низкорослый морфотип) (рис. 5). В целом для растений низкорослого морфотипа как сорта Гале, так и неселекционных образцов характерно более высокое содержание сухого вещества, что связано с их меньшей облиственностью.

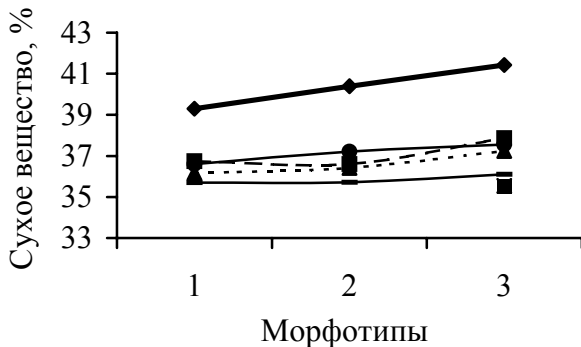


Рис. 5. Содержание сухого вещества у растений второго и третьего года жизни, %.

—◆— сорт Гале; - - ■ - - образец 1;
—●— образец 2; ···▲··· образец 3;
—■— образец 4; ——— образец 5.
1-высокорослый; 2-среднерослый;
3-низкорослый морфотипы.

Обращает на себя внимание высокое содержание сухого вещества у всех морфотипов сорта Гале. Это позволяет предполагать, что при создании сорта этому показателю должно уделяться особое внимание.

Хлорофиллы. Содержание хлорофиллов в кормовом растении является одной из основных предпосылок высокой продуктивности растений.

Исследования показали, что во второй и третий годы жизни наибольшее содержание хлорофиллов **a** и **b** отмечено у морфотипов образца 1, которое составило от 2,1 мг/г (низкорослый морфотип) до 3,1 мг/г сухого вещества (среднерослый морфотип). Наименьшее количество пигментов характерно для низкорослого морфотипа образца 4 (1,9 мг/г сухого вещества).

Таким образом, по содержанию фотосинтетических пигментов наиболее перспективными для селекции являются растения образца 1.

Белковый состав зеленой массы морфотипов галеги восточной

Общий азот. Продуктивность кормового растения тесно сопряжена с накоплением азота, который участвует в синтезе важнейших веществ клетки. Азот является необходимым элементом для формирования ассимиляционной поверхности и обеспечения ее функциональной активности. В среднем за второй и третий годы исследований наибольшее количество общего азота отмечено у

растений среднерослого морфотипа образца 1 (4,0%), наименьшее — у низкорослого морфотипа образца 3 (2,6% на сухое вещество).

Азот небелковый. Небелковые азотистые соединения представлены свободными аминокислотами, амидами и другими веществами, которые являются важными составляющими корма животного. Во второй и третий годы жизни растения низкорослого морфотипа сорта Гале накапливают наибольшее количество небелкового азота — 0,38%, наименьшее — высокорослый морфотип образца 1—0,23% на сухое вещество.

Белок. Питательная ценность зеленой массы определяется комплексом различных веществ, важнейшими и наиболее ценными из которых являются белки. Интерес представляло изучение содержания белка в зеленой массе морфотипов галеги восточной.

В среднем по результатам второго и третьего годов исследований по содержанию белка выделялись растения высокорослого морфотипа образца 2 (23,2%), среднерослых морфотипов сорта Гале (21,3%) и образца 1 (21,2%). Наименьшее его количество отмечено у растений низкорослого морфотипа образца 3 — (14,1% на сухое вещество) (рис. 6).

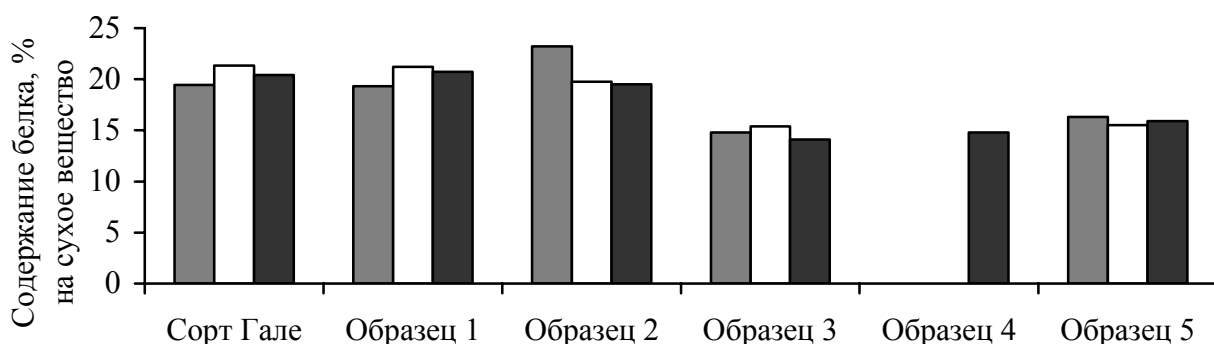


Рис. 6. Содержание белка у растений галеги восточной (второй и третий годы жизни)

Обозначения как на рис. 1

Анализ показателей накопления азотистых веществ позволяет заключить, что перспективными в качестве исходного материала в селекции растений галеги восточной с высоким содержанием белка могут быть высокорослый морфотип образца 2, среднерослые морфотипы сорта Гале и образца 1.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ СЕМЯН

Повышение продуктивности галеги восточной предусматривает создание новых высокобелковых сортов на основе внутривидового разнообразия исходного материала. Известно, что одним из способов изучения внутривидовой изменчивости является применение современного метода разделения и идентификации запасных белков семян в ПААГ, что позволяет быстро и точно получить сведения по их составу у растений [А.В. Конарев, 1987].

При исследовании вариабельности белковых компонентов между морфотипами внутри исследуемого сорта Гале и образцов галеги восточной были выявлены как качественные, так и количественные различия (рис. 7).

Анализ электрофоретических спектров легкорастворимой фракции запасных белков показал, что общими для всех морфотипов являются белки с молекулярной массой (Мм) 35,99 и 70,96 кД, тогда как белок с молекулярной массой 80,01 кД характерен только для морфотипов образцов 1, 2, 5 и сорта Гале. Для морфотипов сорта Гале и образцов 1 и 5 общим является белок с Мм 40,55. У морфотипов образца 2, 3 и сорта Гале в белковом спектре присутствуют также полипептид с Мм 63,73 кД.

Сорт Гале. Высокорослый морфотип сорта Гале отличается от других морфотипов этого же сорта наличием белка с Мм 69,52 кД. Белок с Мм 88,92 кД присутствует только в спектре среднерослого морфотипа, тогда как белки с Мм 35,54; 41,48 кД обнаружены лишь в спектрах низкорослого морфотипа. Общими для всех морфотипов сорта Гале являются белки с Мм от 41,78 до 58,92 кД, а также белки с Мм от 91,51 до 102,09 кД.

Образец 1. Для всех трех морфотипов характерно наличие полипептидов с Мм от 70,96 до 91,51 кД. Кроме этих белков в спектре высокорослого морфотипа обнаружен полипептид с Мм 60,82 кД, у среднерослого — 48,67 кД, у низкорослого — 8,89 и 99,01 кД.

Образец 2. Для всех морфотипов характерно наличие полипептидов в диапазоне с Мм 61,73–89,52 кД. Кроме отмеченных в спектре высокорослого морфотипа обнаружены белки с Мм 45,64 и 58,92 кД, у среднерослого — 29,76 кД, у низкорослого — 52,33 кД.

Образец 3. Полипептиды от Мм 26,87 до 31,18 кД, 37,44–39,04 кД являются общими для всех морфотипов данного образца. Индивидуальными являются полипептиды: у высокорослого морфотипа — 42,29 кД, у среднерослого — 25,45 кД, низкорослого — 34,36 кД. Следует особо подчеркнуть, что у всех морфотипов образца 3 отсутствуют полипептиды в диапазоне Мм 91,51–102,09 кД.

Образец 4. Низкорослый морфотип образца 4 сравнивали с низкорослым морфотипом сорта Гале. У низкорослого морфотипа образца 4, по сравнению с сортом Гале, обнаружены белки с Мм 42,05; 74,58; 96,56 кД, однако отсутствуют белки с Мм 13,67; 15,57; 28,62; 30,56 и др.

Образец 5. Для высокорослого морфотипа отличительными являются белки с Мм 59,67 и 87,36 кД, среднерослого — 31,18 кД, низкорослого — 13,67 кД. Общими для трех морфотипов являются белки с Мм от 32,36 до 58,48 кД, также белки с Мм от 69,52 до 87,07 кД.

Тщательный анализ денситограмм легкорастворимых белков исследуемых морфотипов неселекционных образцов и сорта Гале выявил некоторые количест-

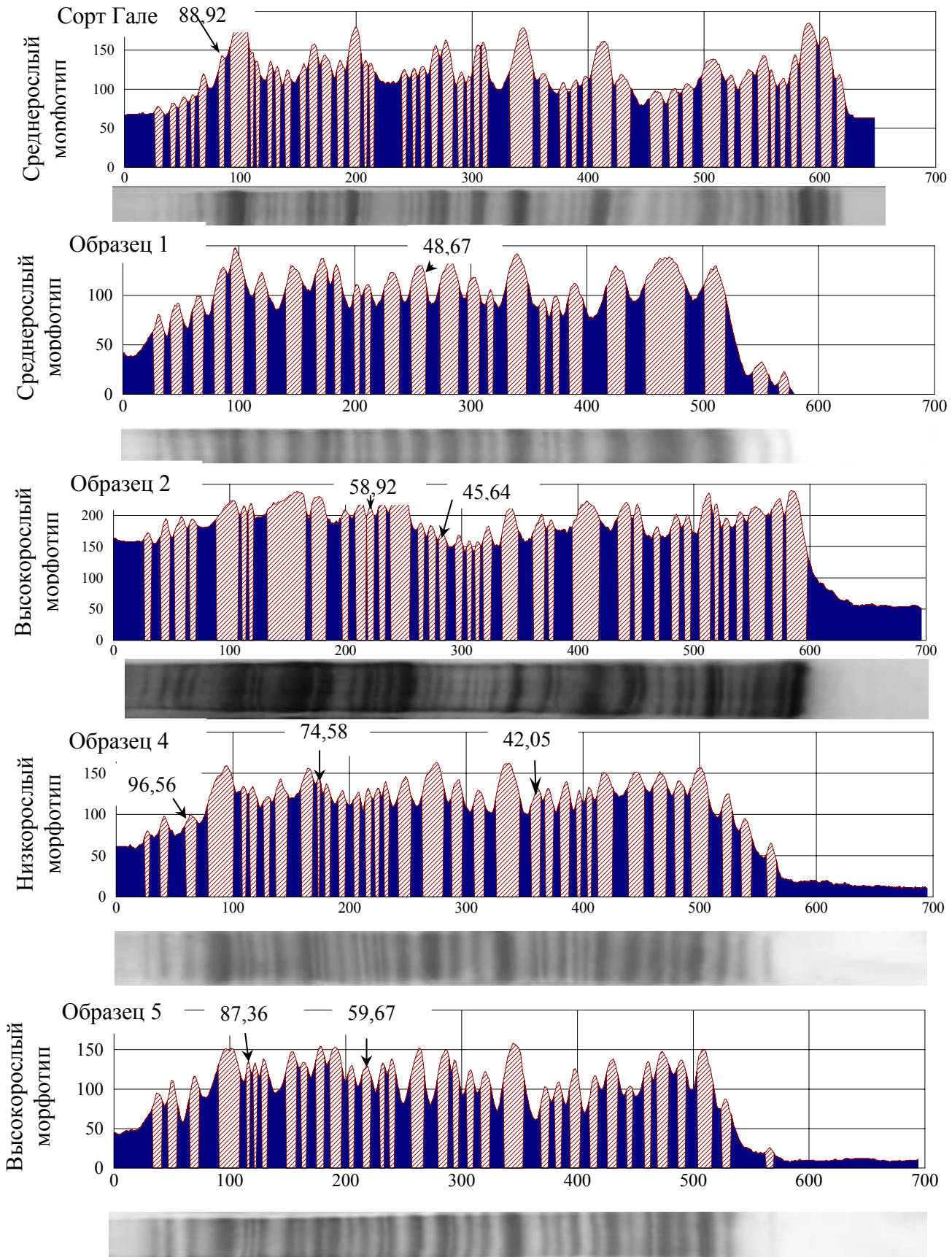


Рис. 7. Денситограммы и электрофореграммы (обработка по программе «Сигма-гель») запасных белков семян морфотипов. По оси абсцисс – длина пробега белка, по оси ординат – интенсивность. Стрелками на денситограммах указаны молекулярные массы в кД.

венные различия в содержании полипептидов. Они колеблются, в основном, в пределах 10% и, вероятно, не могут существенно влиять на биохимический состав исследуемых фракций. Например, у среднерослого морфотипа образца 1 содержание белка с Мм 20,89 кД на 3% выше, чем содержание аналогичного белка у сорта Гале. Отмечено большее на 10% содержание белка с Мм 58,48 кД у высокорослого морфотипа образца 2 по сравнению с низкорослым морфотипом образца 4.

Сравнительный анализ высокобелковых морфотипов исследованных образцов (среднерослый морфотип образца 1 содержит 21,2% белка, высокорослый морфотип образца 2 – 23,2% белка на сухое вещество) показал, что в спектре среднерослого морфотипа образца 1 – 17,5% белка с Мм 40,78 кД, в спектре высокорослого морфотипа образца 2 – 16,41% белка с Мм 77,84 кД. В спектрах низкобелковых морфотипов данные белки не обнаружены. Электрофорез запасных белков в этом случае является эффективным методом, который может быть использован для выявления высокобелковых форм галеги восточной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлена и описана внутривидовая изменчивость образцов галеги восточной по срокам начала и окончания весеннего отрастания, цветения, плодоношения, окончания вегетации. В каждом образце выделены хроноотипы: очень ранние, ранние, средние, поздние и очень поздние. Наименее распространенными у всех образцов являются крайние хроноотипы — очень ранние и очень поздние. Более половины растений приходится на хроноотипы со средним значением фенологического признака [6, 16, 17].

2. На основе кластерного анализа растений по 25 морфологическим признакам образцов выделены четыре морфотипа: высокорослый, среднерослый, низкорослый, низкорослый незимостойкий. У всех исследуемых образцов наибольшую долю составляют высокорослый и среднерослый морфотипы. Показано, что среднерослый морфотип отличается наибольшей семенной продуктивностью, а высокой продуктивностью по биомассе (наибольшим количеством побегов ветвления, кущения, корневищ, облиственности) характеризуются высокорослый и среднерослый морфотипы. Среднерослые морфотипы можно рассматривать как перспективные при отборе по признаку семенной продуктивности, а высокорослый и среднерослый — по биологической продуктивности [4, 7, 9, 10, 14, 15, 18].

3. Отмечено разнообразие формы листочков в сложном листе галеги восточной по признаку соотношения их длины к ширине. Условно выделены три формы листочков: широкояйцевидные, яйцевидные и узкояйцевидные.

Обнаружена положительная корреляция между показателями яйцевидной формы листочка и облиственностью побега. Предполагается, что наиболее перспективными в селекции галеги восточной будут морфотипы с яйцевидной формой листочка в сложном листе. По наличию антоциановой окраски выделены сильно окрашенные, окрашенные, слабо окрашенные и неокрашенные растения, при этом доля последних преобладает у всех образцов. Показано, что интенсивность антоциановой окраски может служить критерием при оценке высокорослости растений на ранних этапах онтогенеза [11, 12].

4. Установлено, что наибольшим содержанием сухого вещества характеризуются морфотипы сорта Гале. При изучении фотосинтетических пигментов показано, что по накоплению хлорофиллов **a** и **b** выделяются морфотипы образца 1. Наибольшим количеством азотсодержащих веществ характеризуется среднерослый морфотип образца 1, белка — растения высокорослого морфотипа образца 2 и среднерослых морфотипов сорта Гале, образца 1. Это позволяет рекомендовать указанные морфотипы в селекции растений с высоким содержанием белка [12, 18].

5. Сравнительный анализ электрофоретических спектров запасных белков семян показал, что изученные морфотипы неселекционных образцов и сорта Гале отличаются как по качественному, так и по количественному составу. Выявленное разнообразие спектров белков легкорастворимой фракции свидетельствует о большом запасе генетической изменчивости [18].

6. На основе полученных экспериментальных данных составлена шкала фенологических стадий роста и развития галеги восточной, подготовлены, изданы и внедрены в производство рекомендации и отраслевые регламенты по формированию многолетних плантаций галеги восточной в производственных условиях [1-5, 8].

СПИСОК РАБОТ,
ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Брошюры

1. Ламан Н.А., Прохоров В.Н., Морозова И.М. Галега восточная: руководство по возделыванию на корм и семена. — Минск: ИООО «Право и экономика», 2003. — 31 с.
2. Ламан Н.А., Прохоров В.Н., Морозова И.М. Рекомендации по возделыванию галеги восточной на корм и семена. — Минск: ИООО «Право и экономика», 2004. — 43 с.
3. Ламан Н.А., Прохоров В.Н., Морозова И.М., Фролов Н.В., Скидан А.Г., Скоринко А.И., Пикун П.Т. Возделывание галеги восточной на корм и семена. Типовые технологические процессы. Отраслевой регламент. — Минск, 2005. — 20 с.
4. Ламан Н.А., Прохоров В.Н., Морозова И.М., Фролов Н.В., Скидан А.Г., Скоринко А.И., Пикун П.Т. Возделывание галеги восточной в смешанных посевах с многолетними злаковыми травами. Типовые технологические процессы. Отраслевой регламент. — Минск, 2005. — 20 с.

Статьи в научных журналах

5. Морозова И.М., Ламан Н.А. Морфологические особенности роста и развития галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.) в первый год жизни // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. — 2003. — № 4. — С. 66–69.
6. Морозова И.М., Ламан Н.А. Внутривидовой полиморфизм галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.) по фенологическим признакам // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. — 2004. — № 2. — С. 5–9.
7. Морозова И.М., Ламан Н.А. Внутривидовой полиморфизм галеги восточной по семенной продуктивности // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. — 2005. — № 3. — С. — 22–25.
8. Ламан Н.А., Прохоров В.Н., Морозова И.М. и др. Галега восточная — многолетняя высокобелковая кормовая культура // Белорусское сельское хозяйство. — 2005. — № 12 (44). — С. 35–38.

Статьи в сборниках и материалах конференций

9. Морозова И.М. Сезонное развитие, зимостойкость и урожайность семян у образцов галеги восточной в Беларуси различного географического происхождения // Сб. ст. 7-й Республиканской науч. конф. студентов и аспирантов Беларуси. — Витебск, 2002. — С. 103–105.
10. Морозова И.М., Ламан Н.А. Внутривидовая изменчивость галеги восточной по морфологическим признакам // Интродукция нетрадиционных и редких сельскохозяйственных растений: Материалы 4-й Международной науч.-практич. конф. — Ульяновск, 2002. — Т.1. — С.66–70.

11. Морозова И.М., Ламан Н.А. Внутривидовой полиморфизм галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.) по морфофизиологическим признакам // VI Международный симпозиум «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования»: Материалы симпозиума. — Москва, 2005. — Т. III. — С. 179–184.
12. Морозова И.М., Ламан Н.А. Внутривидовой полиморфизм галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.) по наличию антоциановой окраски // VI Международный симпозиум «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования»: Материалы симпозиума. — Москва, 2005. — Т. III. — С. 176–178.
13. Морозова И.М., Ламан Н.А. Внутривидовое разнообразие галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.) по семенной продуктивности // Ботанические сады как центры сохранения биоразнообразия и рационального использования растительных ресурсов: Материалы Международной конференции, посвященной 60-летию Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН. — М., 2005. — С. 358–360.

Тезисы докладов:

14. Морозова И.М. Особенности развития видообразцов галеги восточной при культивировании в условиях Беларуси // Антропогенная динамика ландшафтов и проблемы сохранения и устойчивого использования биологического разнообразия: Материалы республиканской науч.-практ. конф. — Минск, 2001. — С. 38–39.
15. Морозова И.М., Ламан Н.А. Рост и развитие галеги восточной в первый год жизни // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: Материалы II Международной научной конференции. — Минск, 2001. — С. 143–144.
16. Морозова И.М., Ламан Н.А. Внутривидовая изменчивость галеги восточной по хозяйственно-ценным признакам // Ботанические сады: состояние и перспективы сохранения, изучения, использования биологического разнообразия растительного мира: Тезисы докладов Международной научной конференции, посвященной 70-летию со дня основания ЦБС. — Минск, 2002. — С. 192–193.
17. Морозова И.М., Ламан Н.А. Внутривидовой полиморфизм галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.) // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: Материалы III Международной научной конференции. — Минск, 2003. — С. 88–89.
18. Морозова И.М., Ламан Н.А. Внутривидовой полиморфизм галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.) по морфофизиологическим и биохимическим признакам // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: Материалы IV Международной научной конференции. — Минск, 2005. — С. 155.

Р Е З Ю М Е

Морозова Инна Михайловна

Морфофизиологическая и биохимическая характеристика
внутривидового разнообразия галеги восточной
(*Galega orientalis* Lam.)

Ключевые слова: внутривидовая изменчивость, морфотип, галега восточная, рост, развитие, семенная и биологическая продуктивность, общий азот, белковый азот, небелковый азот, запасные белки семян.

Объект исследования: семена и растения неселекционных образцов галеги восточной. В качестве контроля использовали районированный сорт Гале. Цель диссертационной работы: изучение и оценка внутривидового разнообразия образцов галеги восточной по основным морфофизиологическим и биохимическим показателям, в выявлении перспективного исходного материала для селекции. Закладку опытов, наблюдений, учеты, анализы растений осуществляли по общепринятым методикам.

Оценена внутривидовая изменчивость образцов галеги восточной по срокам начала и окончания весеннего отрастания, цветения, плодоношения, окончания вегетации. У образцов отмечена внутривидовая изменчивость по форме листочков в сложном листе, наличию антоциановой окраски на отдельных участках стебля, на черешках листа и нижней его стороне. На основе кластерного анализа растений образцов галеги восточной выделены четыре морфотипа: высокорослый, среднерослый, низкорослый, низкорослый незимостойкий. При изучении внутривидового разнообразия по биохимическим признакам показано варьирование содержания сухого вещества, суммы хлорофиллов а и b. Сравнительный электрофоретический анализ показал, что исследуемые морфотипы неселекционных образцов и сорта Гале обладают разной степенью внутривидовой генетической неоднородностью запасных белков семян, а их белковые спектры различаются между собой по количественному и качественному составу. Установлено, что каждый морфотип образцов и сорта Гале отличается наличием индивидуальных белков с определенной молекулярной массой.

Р Э З Ю М Э

Марозава Іна Міхайлаўна

**Морфафізіялагічная і біяхімічная характарыстыка
ўнутрывідавай разнастайнасці галегі ўсходняй
(*Galega orientalis* Lam.)**

Ключавыя словы: унутрывідавая зменлівасць, марфатып, галега ўсходняя, рост, развіццё, насенная і біялагічная прадуктыўнасць, агульны азот, бялковы азот, небялковы азот, запасныя бялкі насення.

Аб'ект даследавання: насенне і расліны неселекцыйных узораў галегі ўсходняй. У якасці кантроля выкарыстоўвалі райяніраваны сорт Гале. Мэта дысертацыйнай работы заключалася ў вывучэнні і ацэнцы ўнутрывідавай разнастайнасці ўзораў галегі ўсходняй па асноўным морфафізіялагічным і біяхімічным паказчыкам, выяўленне перспектыўнага зыходнага матэрыялу для селекцыі. Доследы, назіранні, улікі, аналізы раслін здзяйснялі па агульнапрынятым метадыкам.

Вызначана ўнутрывідавая зменлівасць узораў галегі ўсходняй па тэрмінам пачатку, заканчэння веснавога адрастання, квітнення, плоданашэння, заканчэння вегетацыі. Ва ўзорах адзначана ўнутрывідавая зменлівасць па форме лісточкаў у складаным лісце, наяўнасці антацыянавай афарбоўкі на асобных участках сцябла, на чаранку ліста і ніжнім яго баку. На аснове кластарнага аналізу раслін узораў галегі ўсходняй выдзелены чатыры марфатыпы: высокарослы, сярэднярослы, нізкарослы, нізкарослы незімастойкі.

Пры вывучэнні ўнутрывідавай зменлівасці па хімічных паказчыках паказана вар'іраванне ўтрымання сухога рэчыва, сумы хларафілаў а і b. Параўнальны электрафарэтычны аналіз паказаў, што даследуемыя марфатыпы неселекцыйных узораў і сорту Гале валодаюць рознай ступенню ўнутрывідавай генетычнай неаднароднасці запасных бялкоў насення, а іх бялковыя спектры адрозніваюцца паміж сабой па ўтрыманню і якаснаму складу поліпептыдаў. Устаноўлена, што кожны марфатып узораў і сорту Гале адрозніваецца наяўнасцю бялкоў з пэўнай малекулярнай масай.

S U M M A R Y

Morozova Inna Mikchaylovna

**Morphophysiological and biochemical description of
Galega orientalis Lam. intraspecific diversity**

Key words: *Galega orientalis* Lam., intraspecific variability, morphotype, growth, development, seed and biological productivity, total nitrogen, protein nitrogen, non-protein nitrogen, seed reserved proteins.

Subject of this study was the nonselective samples of the *Galega orientalis* Lam. seeds and plants. Cv. Hale was used as a control. The aim of work was to investigate the *Galega orientalis* Lam. intraspecific variability based on basic morphophysiological and biochemical parameters to discover the perspective primary material for selection. The experiments, observations, registrations and analyzes of plants have been carried out according to generally accepted methods.

The variability of *Galega orientalis* Lam. samples from the beginning to the end of spring growing, flowering, bearing and vegetation was assessed. The variability on leaflet shape of compound leaf, anthocyanic coloration of stem, leafstalk and down leaf side were observed. The four morphotypes such as tall, middle, short and short non-winter were selected based on cluster analysis of *Galega orientalis* Lam. plant samples. The study of intraspecific variability on chemical parameters had shown the variation in dry matter content, total chlorophyll a and b. The comparative electrophoresis analysis allowed revealing the different degree of intraspecific genetic heterogeneity of reserved seed proteins and the difference in qualitative and quantitative composition of protein spectrums in studied morphotypes of non-selective samples and cv. Hale. It was established that every morphotype of samples and cv. Hale characterized by presence of special proteins with certain molecular weight.

Подписано в печать 22.03.2006
Формат 60x84/16
Усл. печ. л. 1,38 Уч.-изд.л. 1,24
Тираж 60. Заказ № 3
Отпечатано на ксероксе Института математики
НАН Беларуси

Издатель и полиграфическое исполнение:
Институт математики НАН Беларуси
ЛИ 02330/0133100
220072 г. Минск, ул. Сурганова 11.

