

И.М. Морозова, Н.А. Ламан, В.Н. Прохоров

Динамика накопления некоторых азотистых веществ у морфотипов галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.)

Галега восточная – эндемик Кавказа, относится к сем. Бобовые, роду галега. Это – многолетнее травянистое растение с поликарпическим циклом развития.

В последние десятилетия в мире возрос интерес к галеге восточной как перспективной высокобелковой кормовой культуре, которая по ряду хозяйственно ценных признаков превосходит традиционные кормовые бобовые травы.

Для познания внутривидового разнообразия, а также изучения исходного материала при проведении селекции важно исследовать накопление азотсодержащих веществ. Поэтому цель данной работы – выявление наиболее перспективных морфотипов по биохимическим признакам для использования в селекции галеги восточной и создание коллекционного материала.

Материал и методы. Объектами служили растения пяти неселекционных образцов: образец 1 – частично окультуренный, получен из коллекции ВИР; образец 2 – растения выращивались на Сельскохозяйственной опытной станции Архангельской области; образец 3 – частично окультуренный в условиях ЦБС НАНБ; образец 4 – семена собраны в природной популяции у подножия горы Маленький Тхач (Республика Адыгея); образец 5 – семена собраны в Апшеронском районе (Краснодарский край). В качестве контроля использовали районированный в Эстонии, Беларуси сорт Гале.

Содержание общего, белкового, небелкового азота, суммарное содержание белка изучали в листьях во второй и третий годы – в фазу плодоношения по общепринятым методам [1].

Результаты исследований. *Общий азот.* Продуктивность кормового растения тесно сопряжена с накоплением азота, который участвует в синтезе важнейших структур клетки. Азот является необходимым элементом для формирования ассимиляционной поверхности и обеспечения ее функциональной активности.

При изучении накопления общего азота во второй год жизни наибольшее содержание общего азота было у морфотипов образца 1 и среднерослого морфотипа 2-го образца. Морфотипы сорта Гале характеризовались несколько большим количеством общего азота, чем морфотипы образцов 2, 4, 5. В третий год жизни наибольшее содержание общего азота отмечено у растений среднерослого морфотипа образца 1–4%, морфотипов сорта Гале. Практически у всех образцов растения высокорослого морфотипа отличаются наименьшим содержанием общего азота – от 2,14% (образец 2) до 3,38% (сорт Гале), а растения среднерослого морфотипа – наибольшим – от 2,76% (образец 3) до 3,91% (образец 1).

Азот небелковый. Как известно, небелковые азотистые соединения представлены свободными аминокислотами и другими азотистыми веществами.

При анализе содержания небелкового азота установлено, что во второй год жизни по всем образцам наименьшее количество небелкового азота наблюдалось у среднерослых морфотипов, наибольшее – у низкорослых, среднее положение по данному показателю занимали высокорослые морфотипы. В третий год жизни наибольшим количеством небелкового азота характери-

зовались растения среднерослого морфотипа образца 1 (0,43%) и высокорослого морфотипа сорта Гале (0,38%).

Таблица

Содержание общего, небелкового, белкового азота морфотипов галеги восточной (второй и третий годы жизни), % на сухое вещество

Образец	Высокорослый морфотип	Среднерослый морфотип	Среднерослый морфотип
Азот общий			
Сорт Гале	–	3,7	3,6
Образец 1	3,5	4	3,7
Образец 2	3,4	3,8	3,1
Образец 3	2,7	2,7	2,6
Образец 4	–	–	3,7
Образец 5	2,8	2,9	2,8
Азот небелковый			
Сорт Гале	0,35	0,32	0,38
Образец 1	0,23	0,33	0,35
Образец 2	0,27	0,25	0,28
Образец 3	0,3	0,3	0,27
Образец 4	–	–	0,31
Образец 5	0,28	0,29	0,32
Азот белковый			
Сорт Гале	3,1	3,4	3,3
Образец 1	3,1	3,8	3,3
Образец 2	2,9	3,2	3,1
Образец 3	2,4	2,7	2,3
Образец 4	–	–	2,4
Образец 5	2,6	2,5	2,6

Таким образом, при суммировании данных, полученных за два последних года исследований, установлено, что достаточно высоким содержанием небелкового азота характеризуются низкорослый и высокорослый морфотипы сорта Гале, соответственно, 0,38% и 0,35% (табл.); низкорослый морфотип образца 1 (0,35%) и низкорослый морфотип образца 5 (0,32%), которые можно рекомендовать как исходный материал для селекции.

Белковый азот. Во второй год жизни самым большим содержанием белкового азота среди всех морфотипов отличался высокорослый морфотип образца 1. Морфотипы сорта Гале характеризовались средними значениями по этому показателю, которые изменялись от 3,22% (высокорослый морфотип) до 3,38% (среднерослый морфотип).

Несколько иная картина наблюдалась в третий год исследований. Самое большое содержание белкового азота отмечено у среднерослого морфотипа образца 1 (3,67%). Для морфотипов сорта Гале характерно несколько меньшее количество белкового азота.

Следует отметить, что морфотипы образцов в третий год исследований характеризовались меньшими значениями содержания белкового азота, по сравнению со вторым годом исследования.

Данные морфотипы по содержанию белкового азота можно рекомендовать как исходный материал для селекции. Все остальные морфотипы образцов характеризуются несколько меньшим содержанием небелкового азота, которое варьировало от 2,3% у низкорослого морфотипа образца 5 до 3,1% у высокорослых морфотипов сорта Гале и образца 1.

Белок. Питательная ценность зеленой массы определяется содержанием белка, поэтому изучение данного показателя в зеленой массе морфотипов представляет определенный интерес.

Во второй год исследований содержание белка у высокорослого морфотипа составило от 14,69% (образец 3) до 24,96% (образец 2), у среднерослого – 14,44% (образец 5) до 24,52% (образец 1), у низкорослого – от 14,69% (образец 3) до 24,58% (образец 1). Наибольшие показатели по содержанию белка отмечены у низкорослого и среднерослого морфотипов 1-го образца – 24,58% и 24,52%, соответственно, несколько меньшим – высокорослый и низкорослый морфотипы 2-го образца, соответственно, 24,96% и 23,3%. Среднее положение по данному показателю занимали морфотипы сорта Гале. Самые низкие показатели по содержанию белка зафиксированы у морфотипов образцов 3–5, показатели которых варьировали от 14,69% (высокорослый и низкорослый морфотипы образца 3) до 16,27% (низкорослый морфотип образца 5).

Наибольшее содержание белка в третий год исследований было отмечено у среднерослого морфотипа образцов 1, 2 и сорта Гале, соответственно, 21,79%, 20,58% и 21,58%. Следует подчеркнуть, что среднерослый морфотип сорта Гале и образца 2 в третий год исследований характеризовались большим содержанием белка, чем во второй год исследований, а среднерослый морфотип образца 1 – наоборот – меньшим. Самые низкие показатели по содержанию белка в третий год исследований имели растения высокорослого морфотипа образца 2 (11,44%), низкорослого морфотипа образца 3 (13,58%).

Растения морфотипов образца 1 накапливали наибольшее количество белка, что составило 21,07% на сухую массу. Следует отметить, что все остальные образцы по содержанию белка значительно уступали сорту Гале. Внутри каждого образца по накоплению белка морфотипы статистически отличаются между собой, кроме морфотипов 3-го и 5-го образцов. Самое низкое содержание белка за два года исследования отмечено у низкорослого морфотипа образца 4. Оно составило 14,81%, а самое высокое – у среднерослого морфотипа образца 1 – 23,16% (рис. 1).

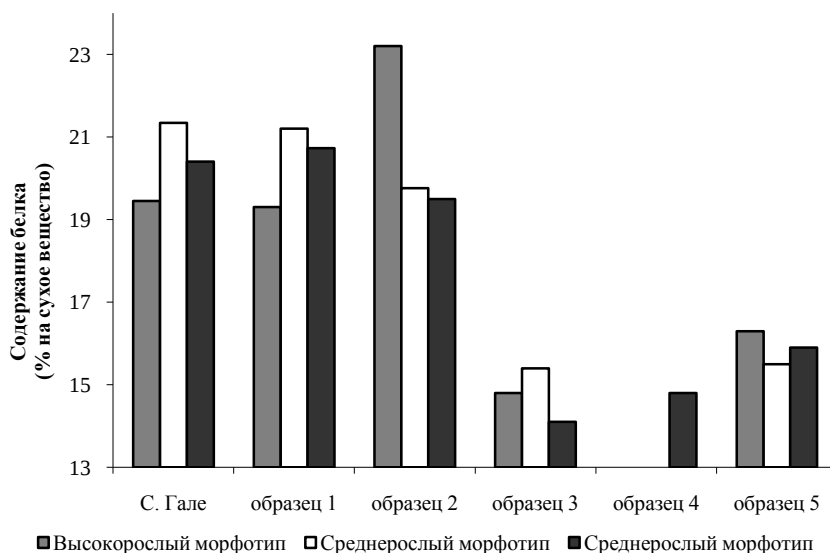


Рис. 1. Содержание белка у растений галеги восточной (второй и третий годы жизни).

Характеристика запасных белков семян. Известно, что одним из способов изучения внутривидовой изменчивости является применение современ-

ного метода разделения и идентификации белков в полиакриламидном геле, что позволяет быстро и точно получить сведения по их составу у отдельных морфотипов. Белки, накапливающиеся при созревании семян и постепенно расходуемые в процессе прорастания, принято называть запасными. Именно эти белки являются наиболее удобными и надежными для идентификации и оценки семян [2].

Обсуждение. Задача данного исследования заключается в сравнительном изучении гетерогенности легкорастворимой фракции запасных белков семян галеги восточной методом электрофореза в полиакриламидном геле с целью молекулярной паспортизации образцов и морфотипов.

Как известно, основой для увеличения генетической изменчивости исходного материала в селекционных работах служит явление полиморфизма.

Анализ электрофореграмм проводили с использованием специальной компьютерной программы (Sigma Gel, Германия), с учетом выраженности отдельных электрофоретических зон [2].

Проведенные исследования показали, что на электрофореграммах обнаружены различия по качественному и количественному белковому составу у морфотипов образцов и сорта Гале галеги восточной (рис. 2).

Анализ электрофоретических спектров запасных белков семян легкорастворимой фракции показал, что общими белками всех морфотипов являются белки с Мм 35,99; 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, 4, 5 общим белком является белок с Мм 40,55. У морфотипов образца 3 и сорта Гале в белковом спектре присутствуют полипептиды с Мм 63,73; 74,58 кД. Белки с Мм 99,01; 102,09 кД обнаружены лишь у низкорослого морфотипа образца 4 и у контрольного сорта Гале.

При исследовании вариабельности белковых компонентов морфотипов внутри одного исследуемого сорта были также выявлены как качественные, так и количественные изменения.

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 общие 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.

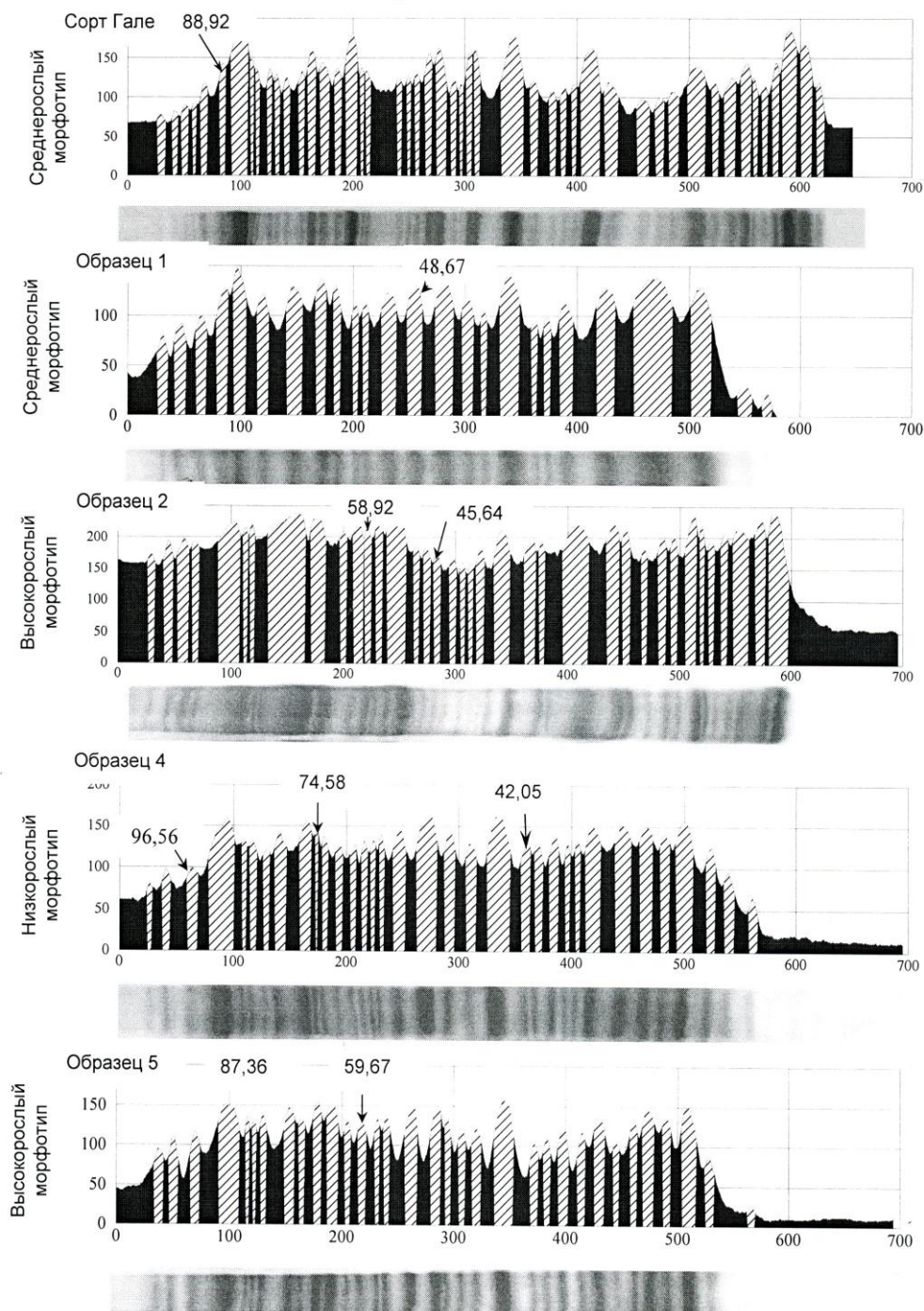


Рис. 2. Денситограммы и электрофореграммы запасных белков семян морфотипов.

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 образцов и сорта Гале выявил некоторые количественные 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 белков с Мм 20,89 кД на 3% выше, чем содержание аналогичного белка у сорта Гале.

Отмечено большее содержание белка с Мм 55,48 кД у высокорослого морфотипа образца 2 на 10%, чем аналогичного белка у низкорослого морфотипа образца 4.

Сравнительный анализ высокобелковых морфотипов исследованных образцов (среднерослый морфотип образца 1 содержит 21,2% белка, высокорослый морфотип образца 2 – 23,2% общего 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 78,93 кД. В спектрах низкобелковых морфотипов данные белки не обнаружены.

Полученные результаты полностью согласуются с данными В.Г. Конорева [2] и других ученых, которые доказали, что степень внутривидовой изменчивости в значительной мере связана с происхождением форм, степенью их селекционной проработки и генетическим разнообразием исходного материала.

Заключение. По накоплению азотсодержащих соединений можно заключить, что по данным признакам наиболее перспективными для селекции являются среднерослые морфотипы сорта Гале, образцов 1, 2, а также высокорослый морфотип образца 2. Поэтому вышеуказанные морфотипы можно рекомендовать как перспективные для селекции.

Сравнительный анализ белковых спектров позволил выявить степень внутривидовой изменчивости исследуемых образцов, а также показал, что изученные морфотипы образцов и сорта Гале отличаются как по качественному, так и по количественному составу. Выявленное разнообразие спектров легкорастворимой фракции свидетельствует о большом запасе генетической изменчивости галеги восточной.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Плешков, Н.Н.** Практикум по биохимии растений / Н.Н. Плешков. – М.: Колос, 1968. – С. 3–9.
2. **Конарев, В.Г.** Белки растений как генетические маркеры / В.Г. Конарев. – М.: Колос, 1983. – 320 с.

S U M M A R Y

The study of intraspecific variability on chemical parameters has shown the variation of total nitrogen, protein nitrogen, non-protein nitrogen, seed reserved proteins morph types of non-selective samples and cv. Hale of the Galega orientalis Lam. It permits to recommend morph types with greatest content matters for plants selection.

Поступила в редакцию 21.11.2008