

УДК 581.1

АДАМОВСКАЯ В.Г., МОЛОДЧЕНКОВА О.О., СИЧКАРЬ В.И., КАРТУЗОВА Т.В.,
БЕЗКРОВНАЯ Л.Я., ЛАВРОВА Г.Д.

Селекционно-генетический институт-Национальный центр семеноведения и сортоизучения НААНУ,
Украина, 65036, г. Одесса, Овидиопольская дорога, 3, e-mail: olgamolod@ukr.net

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ 7S И 11S ГЛОБУЛИНОВ СОИ У ГИБРИДНЫХ ЛИНИЙ F₆ И ИХ РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ

В мировом земледелии соя занимает четвертое место после пшеницы, кукурузы и риса. Соя – уникальное по биохимическому составу и многостороннему использованию растение. Прежде всего, соя служит прекрасным источником растительного белка. С развитием технологии углубленной переработки сои ее продукты успешно используются в технических, пищевых и кормовых целях. В течение последнего десятилетия соевые продукты широко вошли в меню жителей индустриально развитых государств Европы, США, Японии, Китая. Сое в перспективе предстоит стать одной из основных высокобелковых культур в Украине.

Белки сои неоднородны по структуре и функциям. Установлено, что наиболее перспективными белками для производства продуктов питания являются глобулины, а именно 7S (β -конглицинин) и 11S (глицинин) глобулиновые фракции, которые характеризуются четвертичной структурой и неодинаково сбалансированы по аминокислотному составу [1]. 7S глобулины являются гликопротеинами и состоят из трех субъединиц: α' (76 кДа), α (72 кДа) и β (52 кДа). Все субъединицы данного белка не содержат цистеин, а β субъединица характеризуется очень низким его содержанием [2]. Описаны 3 гена, кодирующие 7S глобулины [3]. 11S глобулины состоят из шести субъединиц, причем каждая из них состоит из двух протомеров. Показано, что синтез 11S глобулинов кодируется семейством генов и для 5 из них созданы кДНК: Gy1, Gy2, Gy3, Gy4 и Gy5 [4]. Установлено, что 7S и 11S глобулины оказывают как положительное, так и отрицательное влияние на здоровье человека. Так, отмечено, что 3 основных белка 11S глобулинов вызывают аллергическую реакцию у человека: 28 кДа, α и β субъединицы [5]. Поэтому при ведении селекции сои на качество белка, необходимо учитывать не только количественное содержание этих фракций, но и их компонентный состав. Основные различия

между β -конглицинином и глицинином, определяющие качество белка и соепродуктов, связаны с физико-химическими свойствами этих белков, которые определяют их функциональные свойства. Китайские исследователи, анализируя компонентный состав 7S и 11S глобулинов у 1624 линий и мутантных форм, дефицитных по отдельным компонентам субъединиц этих белков, выявили наличие корреляционных связей между наличием-отсутствием определенных компонентов и функциональными свойствами этих белков [6]. Исходя из вышеизложенного, целью наших исследований было изучение компонентного состава 7S и 11S глобулиновых фракций соевого белка у гибридов F₆ и их родительских форм, а также определение количественного содержания этих фракций и их соотношения в белке с тем, чтобы в дальнейшем при селекции на качество семян селекционеры могли вести целенаправленный отбор генотипов исходя из требований производства.

Материалы и методы

Исследования проводились на гибридных линиях F₆ (семенах F₆) сои (*Glycine max* L.): Медя х ВИР 5048 (13 линий), g [mS₁T х Tokyo х K4937) х Kiszelniska (3 линии), Хей-нун х (K₁₂ х Чернобурая) – (2 линии), Делта х Валюта (3 линии) и их родительских формах: Медя, ВИР 5048, g [mS₁T х Tokyo х K4937) х Kiszelniska, Хей-нун, K₁₂ х Чернобурая, Дельта, Валюта и сортах Аркадия одесская, Ятрань. Семена были предоставлены отделом селекции, генетики и семеноводства бобовых культур СГИ-НЦСС.

Содержание белка в семенах сои определяли по методу Кьельдаля на анализаторе Kjeltac Auto 1030. Выделение и идентификацию 7S и 11S глобулинов сои проводили методами, разработанными и усовершенствованными в нашей лаборатории [7]. Электрофорез белков проводили в 15% ПААГ, содержащем 1% SDS, с исполь-

Таблица 1

Содержание и соотношение 7S и 11S глобулиновых фракций в семенах сои у гибридных линий F₆ и их родительских форм (% от суммарной фракции глобулинов)

Сорт, линия	Суммарная фракция глобулинов, %	11S глобулины, %	7S глобулины, %	Соотношение 11S/7S глобулинов	Содержание белка в обезжир. муке, %
Медея	78,3	42,5	35,8	1,19	52,5
ВИР 5048	76,3	31,7	44,8	0,71	56,9
Медея x ВИР 5048 F ₆	77,3	38,7	38,6	1,00	53,2
Аркадия одесская	84,5	43,4	41,1	1,05	50,8
Ятрань	91,7	47,1	52,8	0,89	51,4
mS ₁ T x Токуо x к 4937	67,7	27,8	39,9	0,70	53,1
Kiszelniska	35,7	14,6	31,1	0,47	51,6
[mS ₁ T x Токуо x к 4937] x Kiszelniska F ₆	87,0	37,7	49,3	0,76	51,4
-//-	83,2	34,6	48,7	0,71	49,9
Хей-нун	88,9	46,9	41,9	1,1	52,3
К-12 x Чернобурая	67,7	35,7	32,0	1,1	55,3
(Хей-нун x К-12 x Чернобурая) F ₆	90,5	29,6	60,9	0,49	52,8
-//-	82,6	36,6	46,0	0,80	49,9
Валюта	88,8	36,8	51,9	0,70	54,3
Дельта	79,7	36,2	43,5	0,83	48,4
Дельта x Валюта	81,4	34,6	46,9	0,74	50,2
max	91,7	42,5	60,9	1,1	56,9
min	35,7	27,8	32,0	0,49	49,9

зованием системы Nem-Hoff. В качестве маркеров молекулярных масс использовали следующую белковую смесь: 109 кДа – коллагеназа, 97 кДа – фосфорилаза В, 67 кДа – бычий сывороточный альбумин, 45 кДа – альбумин яичный, 30 кДа – карбоангидраза, 20,1 кДа – ингибитор трипсина, 14,4 кДа – α-лактальбумин.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета программ «Анализ данных электронных таблиц «Microsoft Excel»», программы анализа изображений «ImageJ».

Результаты и обсуждение

В литературе существует несколько противоречивых мнений о взаимосвязи между содержанием белка в семенах сои и содержанием 7S и 11S глобулиновых фракций. Так, Yoklick, изучая высокобелковые линии сои, отметил, что эти линии, как правило, содержат большое количество β-конглицинина и глицинина, по сравнению со стандартными сортами сои [5]. В то же время Nagada et al. в своей работе констатировали отсутствие корреляционной связи между содержанием суммарного белка в семенах сои и содержанием, соотношением 11S/7S глобулиновых

фракций в белке [3]. Как показали наши исследования, сорта и гибридные линии F₆ значительно различаются как по содержанию 7S и 11S глобулиновых фракций, так и по их соотношению в белках сои, при этом корреляционной связи между этими показателями и содержанием белка нами установлено не было. Так, у исследованных сортов и линий F₆ содержание 11S глобулинов колебалось в интервале 27,8–42,5 %, содержание 7S глобулинов – соответственно в интервале 32,0–60,9 %, а содержание белка – в интервале 49,9–56,9 %. При этом соотношение 11S/7S находилось в пределах 0,49–1,1 (табл. 1). Полученные нами данные согласуются с результатами, представленными бразильскими исследователями, которые показали возможность отбора генотипов сои с учетом конкретных глобулиновых фракций белка при селекции сои продовольственного направления.

Следующим этапом наших исследований было изучение компонентного состава 7S и 11S глобулинов в семенах гибридных линий F₆ и их родительских форм. Глобулиновые фракции условно были разбиты на группы в зависимости от величины молекулярной массы: высокомолекулярные (97,0–65,0 кДа), средномолекулярные

Таблица 2

Компонентный состав 7S и 11S глобулинов семян гибридных линий F₆ сои и их родительских форм зарубежной селекции (Китай, Япония)

№	Сорт, линия	Фракция	Количество белковых компонентов в электрофоретическом спектре			
			высоко-молекулярные	средне-молекулярные	низко-молекулярные	сумма
1	Хей-нун ♀	У	11	8	6	25
2	(К-12 х Чернобурая) ♂	У	11	8	6	25
3	(Хей-нун х К-12 х Чернобурая) F ₆	У	11	8	6	25
4	—//—	У	11	8	6	25
5	Хей-нун ♀	11S	9	11	3	23
6	(К-12 х Чернобурая) ♂	11S	9	11	3	23
7	(Хей-нун х К-12 х Чернобурая) F ₆	11S	9	11	3	23
8	—//—	11S	9	11	3	23
9	Хей-нун ♀	7S	9	12	3	24
10	(К-12 х Чернобурая) ♂	7S	9	12	3	24
11	(Хей-нун х К-12 х Чернобурая) F ₆	7S	9	12	3	24
12	—//—	7S	9	12	3	24
13	[mS ₁ T х Tokyo х к 4937] ♀	У	9	9	5	23
14	Kiszelniska ♂	У	9	9	5	23
15	[mS ₁ T х Tokyo х к 4937] х Kiszelniska F ₆	У	9	9	5	23
16	—//—	У	9	9	5	23
17	[mS ₁ T х Tokyo х к 4937] ♀	11S	9	9	5	23
18	Kiszelniska ♂	11S	9	9	5	23
19	[mS ₁ T х Tokyo х к 4937] х Kiszelniska F ₆	11S	7	13	5	25
20	—//—	11S	7	13	5	25
21	[mS ₁ T х Tokyo х к 4937] ♀	7S	8	9	4	21
22	Kiszelniska ♂	7S	8	9	4	21
23	[mS ₁ T х Tokyo х к 4937] х Kiszelniska F ₆	7S	8	9	4	21
24	—//—	7S	8	9	4	21

ные (45,0–30,0 кДа) и низкомолекулярные (20,1–14,4 кДа). Как видно из таблицы 2, 7S и 11S глобулиновые фракции у гибридных линий F₆ и их родительских форм, созданных на основе сортов китайской и японской селекции, содержат больше белковых компонентов в среднемoleкулярной зоне электрофоретических спектров по сравнению с глобулинами семян гибридных линий F₆ сои, созданных с использованием сортов отечественной селекции. Кроме того, у двух гибридных линий F₆ g(mS₁T х Tokyo х K4937) х Kiszelniska отмечались различия по компонентному составу этих белков во всех зонах их электрофоретических спектров по сравнению с ком-

понентным составом их родительских форм. В то же время у гибридных линий F₆ сои, созданных на основе сортов отечественной селекции, полиморфизм по компонентному составу 7S и 11S глобулиновых фракций в данном эксперименте нами не установлен. Однако при этом мы еще раз подтвердили наличие межсортового полиморфизма этих белков, установленного ранее [8]. По всей видимости, отсутствие полиморфизма 7S и 11S глобулиновых белков у изучаемых гибридных комбинаций может быть обусловлено спецификой данных гибридных комбинаций, сопряженной с комплементарным взаимодействием родительских генотипов.

Выводы

Сорта и гибридные линии F₆ сои характеризуются значительными различиями по содержанию и соотношению 7S и 11S глобулиновых фракций в белке. Не установлено тесной связи между содержанием изучаемых глобулиновых фракций в белке сои и суммарным содержанием

белка в семенах. Подтверждены полученные нами ранее результаты о наличии межсортового полиморфизма по компонентному составу 7S и 11S глобулиновых белков сои. Показано наличие полиморфизма компонентного состава 7S и 11S глобулинов у гибридных линий F₆, созданных на основе китайских и японских сортов сои.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клименко В.Г. Белки семян бобовых растений: Кишинев, 1978. – Штица. – 344 с.
2. Hayashi M., Harada K., Fujiwara T., Kitamura K. Characterization of a 7S globulin-deficient mutant of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) // Mol. Gen. Genet. – 1998. – 258. – P. 208–214.
3. Harada J.J., Barker S.J., Goldberg R.B. Soybean β -conglycinin genes are clustered in several DNA regions and are regulated by transcriptional and posttranscriptional processes // Ibid. – 1989. – N. 1. – P. 415–425.
4. Nielsen N.C., Dickinson C.D., Cho T.J., Thanh V.H., Scallon B.J., Fischer R.L., Sims T.L., Drews G.N., Goldberg R.J. Characterization of the glycinin gene family in soybean // Plant Cell. – 1989. – N. 1. – P. 313–328.
5. Yaklich R.W. β -Conglicinin and glicinin in high-protein soybean // G. Agric. Food. Chem. – 2000. – 49. – P. 729–735.
6. Guo S.T., Meng Y., Zhang X.M., Zhang X.M., Qi J., Qiu L.J., Chang R.Z. Analysis of protein subunit composition of Chinese soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] cultivars and screening cultivars lacking some subunits // Acta Agronomica Sinica. – 2006. – 32. – P. 1130–1134.
7. Адамовська В.Г., Молодченкова О.О., Січкач В.І., Цісельська Л.Й., Сагайдак Т.В. Спосіб добору сої. Патент на корисну модель № 42181. 25.06.2009 р.
8. Адамовська В.Г., Молодченкова О.О., Січкач В.І., Каргузова Т.В., Лаврова Г.Д., Хорсун І.А. Міжсортовий поліморфізм компонентного складу глобулінів та альбумінів насіння сої в зв'язку з якістю білка // Збірник наукових праць СГІ. – 2011. – Вип. 18 (58). – С. 89–92.

ADAMOVSKAYA V.G., MOLODCHENKOVA O.O., SICHKAR V.I., KARTUZOVA T.V., BEZKROVNAYA L.Y., LAVROVA G.D.

Plant Breeding & Genetic Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation, Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopol'skaya doroga, 3, e-mail: olgamolod@ukr.net

A COMPONENT COMPOSITION OF SOYBEEN 7S AND 11S GLOBULINS AT THE F₆ HYBRID LINES AND ITS PARENTAL FORMS

Aims. Glycinin (11S globulin) and β -conglycinin (7S globulin) are important seed storage proteins in the soybean. The objective of this work was to study a character of component compositions variation and contents of 11S and 7S globulins in the varieties and F₆ hybrid lines of soybean seed in the connection of food direction soybean breeding. **Methods.** 7S and 11S globulins were separated by method, which was developed in the Laboratory of Plant Biochemistry (Patent # 42181). The pictures of 11S and 7S globulins were taken with SDS-PAGE electrophoresis. **Results.** It was established, that varieties and hybrid lines are characterized by considerable distinctions of 7S and 11S globulins contents and its correlation in the soybean protein. A connection between 7S and 11S globulins contents and protein contents wasn't established. The presence of variety polymorphism of the component composition of the 7S and 11S globulins at the F₆ hybrid lines created on the basis of Chinese and Japanese soybean varieties was shown. **Conclusions.** The got results open fundamentally new approach of estimation of soybean seed on a quality of protein and can be used for authentication of soybean varieties of the food direction.

Keywords: *Glycine max* L., 11S globulin, 7S globulin.