

**ХАРАКТЕРИСТИКА  
ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ  
СПЕКТРОВ ФЕРМЕНТОВ  
КАК МАРКЕРОВ СОРТОВ СОИ**

**Л.Е. Иваченко, И.В. Егорова,  
Н.Д. Фоменко\***

*Благовещенский государственный  
педагогический университет,  
г. Благовещенск, Россия,  
\*Всероссийский научно-  
исследовательский институт сои,  
г. Благовещенск, Россия*

В настоящее время Россия обеспечивает экономику страны всего на 20 % отечественной соей, хотя ее мировое производство увеличивается высокими темпами. Основным производителем сои в стране была и остается Амурская область, где расположен единственный в стране Всероссийский научно-исследовательский институт сои, который осуществляет научное обеспечение соеводства.

Повышение эффективности селекционной работы во многом зависит от того, насколько полно оценен генотип и изучена структура селекционных линий для совершенствования отбора. Изучение генетики и биохимии сои повысит качество селекционных исследований. Для этого необходимо внедрить в селекционную практику быстрые и надежные методы исследования, отвечающие современным требованиям [1].

Значительное повышение эффективности селекционных работ и сокращение сроков создания сортов может быть достигнуто на основе использования нового типа полиморфных маркеров — белковых систем, в том числе ферментов [2].

В настоящее время достаточно подробно изучены изоферменты пшеницы, ржи, ячменя, кукурузы, свеклы, льна, сосны и других растений. Изучение полиморфизма белков сои за рубежом началось более полувека назад и отражает в основном генетико-биохимическое направление изучения изозимов сои [3].

Однако у сои сведения о генетическом контроле большинства белков, особенно ферментов, крайне ограничены.

В связи с этим, целью исследований стало изучение электрофоретических спектров ферментов основных метаболических путей в семенах районированных сортов сои.

Объектом исследования служили семена восьми сортов сои (*Glycine max* L.), различающихся по скороспелости и происхождению (скороспелые: Закат, Смена, Соната Амурской селекции, Соер-4 Саратовской селекции и среднеспелые: ВНИИС-1, Октябрь-70, Гармония Амурской селекции и Луч Надежды селекции Дальневосточного государственного аграрного университета). Семена сои, выращенные в 2000 — 2002 году, получили из трех Госсортоучастков Амурской области, различающихся по агроклиматическим условиям. Электрофоретические спектры ферментов выявляли методом энзим-электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) по Дэвису [4]. Окрашивание на геле зон с ферментативной активностью проводили соответствующими гистохимическими методами [5].

Для исследований были выбраны две группы ферментов: ферменты гидролитического комплекса (амилазный и эстеразный комплексы, кислая фосфатаза), и оксидоредуктазы (каталаза, пероксидаза) имеющие,

кроме каталазы в основном широкую субстратную специфичность. Для большинства из этих ферментов установлена их активность в семенах сои и проростках, отработаны методы аналитического выявления электрофоретических спектров [6].

Каталаза — фермент с невысокой гетерогенностью. В семенах 8 районированных сортов сои за 3 года исследований выявлено всего 8 форм фермента. Электрофоретические спектры каталазы семян сои исследованных сортов относительно стабильны и состоят из 6 — 8 форм. Для всех сортов сои выявлены 5 форм каталазы с  $R_f=0,07$ ,  $R_f=0,13$  и  $R_f=0,17$  с низкой и с  $R_f=0,30$ ,  $R_f=0,42$ , со средней электрофоретической подвижностью. В семенах сои всех сортов в исследуемые годы обнаружена форма с  $R_f=0,42$ . Электрофоретические спектры сортов Октябрь-70, Соната, Закат, Смена, Луч Надежды и Соер-4 оказались сходными. Для этих сортов установлены все 8 форм каталазы. Самая высокая встречаемость форм фермента выявлена для сортов Октябрь-70, Луч Надежды и Соер-4. В семенах сорта ВНИИС-1 не установлена форма с  $R_f=0,37$ . Для сорта Гармония выявлены всего 6 форм фермента каталазы. В семенах этого сорта не обнаружены формы с  $R_f=0,17$  и  $R_f=0,37$ .

При анализе электрофоретических спектров каталазы по годам исследования установлено, что самое высокое количество форм фермента выявлено в 2002 году, в 2000 году почти на 30%, а в 2001 — на 20% меньше.

Электрофоретические спектры пероксидазы отличались значительным разнообразием. За три года исследований обнаружено 18 форм фермента. Но в то же время не выявлено ни одного сорта, который со-

держал бы все формы пероксидазы. По 17 форм установлено для сорта ВНИИС-1 (отсутствует форма с  $R_f=0,55$ ) и Соната (отсутствует форма с  $R_f=0,83$ ). Наименьшее количество форм установлено для сорта Луч Надежды. Для всех сортов обнаружены формы с  $R_f=0,02$ ,  $R_f=0,07$  и  $R_f=0,16$  с невысокой и с  $R_f=0,34$ ,  $R_f=0,39$  со средней электрофоретической подвижностью. Только для двух сортов ВНИИС-1 и Октябрь-70 обнаружена форма с  $R_f=0,83$ , а для сортов Соната и Гармония — форма с  $R_f=0,55$ . Следует отметить, что скороспелые сорта ВНИИС-1 и Соната содержат максимальное число пероксидазы и каталазы, а сорт Луч Надежды — наоборот минимальное.

За три года исследований выявлено большое количество форм пероксидазы в основном с невысокой и средней электрофоретической подвижностью. Высокой гетерогенностью отличилась пероксидаза в семенах сои, выращенных в условиях 2002 года, но в этом году отсутствуют низкомолекулярные формы с  $R_f=0,83$ ,  $R_f=0,75$ ,  $R_f=0,62$  и  $R_f=0,58$ . В 2000 и 2001 году установлено форм пероксидазы значительно меньше, чем в 2002.

Для 8 сортов сои за 3 года обнаружено 10 форм амилазного комплекса. Все формы установлены в семенах сои сорта ВНИИС-1, Октябрь-70 и Соер-4. Форма с  $R_f=0,52$  со средней электрофоретической подвижностью не выявлена для сортов Соната, Закат, Смена, Луч Надежды и Гармония. Для сорта Луч Надежды установлено только 8 форм амилазного комплекса. Для этого сорта кроме формы с  $R_f=0,52$  не установлена форма с  $R_f=0,25$  со средней электрофоретической подвижностью.

Следует отметить, что высокой встречаемостью отличились формы с  $Rf=0,05$ ,  $Rf=0,11$ ,  $Rf=0,15$  и  $Rf=0,21$  с невысокой электрофоретической подвижностью. Несколько меньшая встречаемость установлена для остальных форм. И только для трех сортов ВНИИС-1, Октябрь-70 и Соер-4 установлена форма с  $Rf=0,52$ . За годы исследований по сортам выявлено минимальное количество форм для сорта Луч Надежды и максимальное для сортов ВНИИС-1 и Соната.

Больше всего форм амилазного комплекса установлено в 2000 году и на 10% меньше в 2002 и 2001 годах. В 2000 году не обнаружена редко встречающаяся форма с  $Rf=0,52$ .

За три года исследований установлено 14 форм эстеразного комплекса, которые отличились высокой встречаемостью по сортам. В семенах сои выявлено от 10 форм (для сорта Гармония) до 13 форм (для сортов ВНИИС-1, Октябрь-70 и Смена). В остальных сортах обнаружено по 12 форм эстеразного комплекса. Во всех исследуемых сортах обнаружены формы с  $Rf=0,3$ ,  $Rf=0,24$ ,  $Rf=0,18$ ,  $Rf=0,13$ ,  $Rf=0,03$  с невысокой,  $Rf=0,44$  со средней и  $Rf=0,72$ ,  $Rf=0,62$  с высокой электрофоретической подвижностью. Причем форма с  $Rf=0,03$  выявлена во всех сортах за исключением сорта Смена за все годы исследований. Форма с  $Rf=0,72$  проявилась в семенах сои во всех сортах, выращенных в условиях 2001 и 2002 года. Формы с  $Rf=0,56$ ,  $Rf=0,50$ ,  $Rf=0,44$ ,  $Rf=0,37$  имеют невысокую встречаемость и почти не встречаются в семенах сои в 2001 году. Форма  $Rf=0,90$  с высокой электрофоретической подвижно-

стью выявлена только для сортов Октябрь-70 и Луч Надежды.

За три года исследований установили, что в 2000 и 2002 годах экспрессия генов эстеразного комплекса была одинаково высокой, а в 2001 почти на 30% меньше.

В семенах сои за три года установлено 13 форм кислой фосфатазы. Наивысшей гетерогенностью отличились семена сорта Соер-4. Для него установлены все формы фермента. Наибольшей встречаемостью выделились формы с  $Rf=0,04$ ,  $Rf=0,12$  с невысокой и  $Rf=0,42$  со средней электрофоретической подвижностью. Промежуточные формы с  $Rf=0,3$ ,  $Rf=0,24$ ,  $Rf=0,2$  и  $Rf=0,16$  с невысокой электрофоретической подвижностью также представлены во всех исследованных сортах, но с меньшей встречаемостью. Формы с  $Rf=0,46$ ,  $Rf=0,51$ ,  $Rf=0,58$ ,  $Rf=0,63$  и  $Rf=0,75$  со средней и высокой электрофоретической подвижностью менее проявлены. Самая высокоподвижная форма с  $Rf=0,75$  установлена только для сортов ВНИИС-1 и Соер-4. Сортные различия проявились по формам с невысокой молекулярной массой. Так для сорта ВНИИС-1 не установлена форма с  $Rf=0,46$ . Кроме формы с  $Rf=0,75$ , в семенах сои сорта Соната не выявлена также форма с  $Rf=0,58$ , сортах Закат и Смена — форма с  $Rf=0,63$ , а для сорта Гармония — формы с  $Rf=0,46$  и  $Rf=0,42$ .

За три года исследования установлено, что в 2000 году выявлено почти на 20% форм кислой фосфатазы больше чем в 2001 и 2002 годах.

Поскольку основным критерием для характеристики множественных форм ферментов является их относительная электро-

форетическая подвижность Rf, авторами предлагается оценить разнокачественность сортов сои по выявленным формам ферментов согласно их электрофоретической подвижности. Нумерация проведена от более высокоподвижных форм, которые имеют отклонения в подвижности  $\pm 0,03$  к низкоподвижным формам, для которых отклонения в подвижности составили от  $\pm 0,01$  до  $\pm 0,02$ .

Для каталазы полученные формы были распределены следующим образом: формы с Rf=0,48 названы К1; формы с Rf=0,42 — К2; формы с Rf=0,37 — К3; формы с Rf=0,30 — К4; формы с Rf=0,23 — К5; формы с Rf=0,17 — К6; формы с Rf=0,13 — К7; формы с Rf=0,07 — К8.

Для пероксидазы полученные формы распределены следующим образом: формы с Rf=0,83 названы П1; формы с Rf=0,75 — П2; формы с Rf=0,62 — П3; формы с Rf=0,58 — П4; формы с Rf=0,55 — П5; формы с Rf=0,49 — П6; формы с Rf=0,45 — П7; формы с Rf=0,42 — П8; формы с Rf=0,39 — П9; формы с Rf=0,34 — П10; формы с Rf=0,29 — П11; формы с Rf=0,25 — П12; формы с Rf=0,22 — П13; формы с Rf=0,16 — П14; формы с Rf=0,13 — П15; формы с Rf=0,10 — П16; формы с Rf=0,07 — П17; формы с Rf=0,02 — П18.

Для эстеразного комплекса полученные формы распределены следующим образом: формы с Rf=0,90 названы Э1; формы с Rf=0,78 — Э2; формы с Rf=0,72 — Э3; формы с Rf=0,62 — Э4; формы с Rf=0,56 — Э5; формы с Rf=0,50 — Э6; формы с Rf=0,44 — Э7; формы с Rf=0,37 — Э8; формы с Rf=0,30 — Э9; формы с Rf=0,24 — Э10; формы с Rf=0,18 — Э11; формы с Rf=0,13 — Э12;

формы с Rf=0,07 — Э13; формы с Rf=0,03 — Э14.

Для амилазного комплекса полученные формы распределены следующим образом: формы с Rf=0,52 названы А1; формы с Rf=0,46 — А2; формы с Rf=0,41 — А3; формы с Rf=0,36 — А4; формы с Rf=0,32 — А5; формы с Rf=0,25 — А6; формы с Rf=0,21 — А7; формы с Rf=0,15 — А8; формы с Rf=0,11 — А9; формы с Rf=0,05 — А10.

Для кислой фосфатазы полученные формы распределены следующим образом: формы с Rf=0,75 названы КФ1; формы с Rf=0,63 — КФ2; формы с Rf=0,58 — КФ3; формы с Rf=0,51 — КФ4; формы с Rf=0,46 — КФ5; формы с Rf=0,42 — КФ6; формы с Rf=0,35 — КФ7; формы с Rf=0,30 — КФ8; формы с Rf=0,24 — КФ9; формы с Rf=0,20 — КФ10; формы с Rf=0,16 — КФ11; формы с Rf=0,12 — КФ12; формы с Rf=0,04 — КФ13.

Таким образом, впервые осуществлен разносторонний анализ и обобщение данных по электрофоретическим спектрам ферментов основных метаболических путей семян районированных сортов сои.

#### Список литературы

1. Нецветаев В. П. Теоретические основы использования белкового полиморфизма для оптимизации селекционного процесса: автореф. дис. на соис. уч. степени д-ра биол. наук / В. П. Нецветаев. — ВИР СПб., 2000. — 49 с.
2. Созинов А. А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции / А.А. Созинов. — М.: Наука, 1985. — 272 с.
3. Doong J.-Y. H. Cultivar identification by isozyme analysis / J.-Y. H. Doong, Y.-T. Ki-

ang. // Soybean Genet. Newsl. — 1987. — V. 14. — P. 189-226.

4. Devis B. J. Disc electrophoresis. 11. Method and application to human serum proteinase [Text] / B. J. Devis. // Ann. N.Y.Acad. Sci. — 1964. — V. 121. — № 1. — P. 404–427.

5. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений / Е. В. Левитес. — Новосибирск: Наука, 1986. — 145 с.

6. Иваченко Л. Е. Методы изучения полиморфизма ферментов сои. Л. Е. Иваченко [и др.]. / Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2008. — 142 с.

#### **ИЗМЕНЕНИЕ В МИКРОБИОТЕ КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЙ ПРИ ХРАНЕНИИ**

**И.Б. Леонова**

*Российская экономическая академия  
им. Г.В.Плеханова  
г. Москва, Россия*

Многолетние исследования в области изучения поведения микробиоты кондитерских изделий на примере шоколада и конфет показывают наличие определенных изменений в количественном и качественном составе микроорганизмов в процессе хранения этих продуктов. Большая часть находящихся в кондитерских изделиях микроорганизмов относятся к мезофильным аэробным и факультативно анаэробным микроорганизмам, определяемым с использованием стандартных классических методов и традиционно считаемым в колониеобразующих единицах (КОЕ/г). Установлено, что количественный состав микроорганизмов меняется с определен-

ной периодичностью при наличии периодов максимального и минимального содержания микроорганизмов (в течение допустимого срока хранения изделий в рекомендуемых потребительских условиях). Известно, что активное развитие микроорганизмов в изделиях с низкой влажностью, таких как шоколад и конфеты, отсутствует. Однако детальные исследования, проводимые стандартными методами, показывают наличие активных изменений в количественном составе микробиоты сахаристых кондитерских изделий. В течение трех недель (в среднем) количество микроорганизмов может увеличиться и затем после непродолжительного периода уменьшиться на логарифмический порядок (менее или более в разных случаях) по отношению к фоновому значению (в КОЕ/г). Такие волнообразные изменения количественного состава наблюдаются на протяжении всего периода хранения различных изделий. Изучение изменения качественного состава микробиоты шоколада и конфет в процессе хранения также показывает определенные изменения, носящие волнообразный характер. Изменение типов колониеобразования в течение периода хранения показывает наличие как минимум трех типов при высеве одного разведения. Изучение культуральных признаков преобладающих типов бактерий в течение периода хранения показывают наличие «бактерий минимумов» и «бактерий максимумов». По видимому, изменение химического состава кондитерских изделий сопровождается выявлением в разные периоды времени различных групп бактерий, что соответственно образом влияет на качество продукта.