

Í Î ÆÛÄ Í ÆÏ ÐÀÄËÁÍ ÈΒ ÈÑÑËÄÄÏ ÄÄÍ ÈΒ Ï ÐÄÄÑÒÄÄËÒÄËÄË ÑÄÏ ÄËÑÒÄÄ FABACEAE LINDL

Ä þòàóüà èçèí æáí ù î ñí î áí ùä î ðèí òèí ù èçò+áí èý í æèí òí ðüò î ðááñòááèòáèèé ñàí æèñòáá Fabaceae Lindl. í à î í èáèèèýðí î -ááí áòè+áñèí î óðí áí á. Ðáññí î ððáí ù î ðèí òèí ù ááèèí áí áí î áðèèðí ááí èý è î ñí ááí í î ñòè çáí áñí ùò ááèèí á ñàí ýí ðáñòáí èé ñàí æèñòáá áí áí áüò, á ðáèæá í î áüà í áí ðááèáí èý èññèááí ááí èý ýòí áí ñàí æèñòáá.

Исследование Семейства Бобовых – Fabaceae Lindl., неизбежно ведет к проблеме систематики, этой сложной группы растений. В разных системах отношений таксонов, это семейство оказывается иногда в совершенно неожиданном родстве с другими семействами. В настоящее время большинство исследователей склоняются к тому, что бы соединить несколько систем построенных по разным принципам в одну общую систему взаимного родства таксонов. По одной из таких систем Порядок Бобовых ставиться в родство с Порядком Розовых, а внутри порядка, по многочисленным данным семейство Fabaceae Lindl. Находиться в тесном родстве с семейством цезальпиниевых.

Исследования, опирающиеся на чистую морфологию и изучение популяций, безусловно, нельзя назвать полными, если их не дополняют данные генетической структуры. Именно эти данные позволяют глубже понять историю семейства, проследить степень и скорость эволюционного развития видов.

Семейство Fabaceae L. наиболее богато формами из всех бобовых. Еще недавно это семейство делилось на 10 естественных групп, называемых трибами и различающихся сравнительно небольшими морфологическими признаками. Это деление было сделано Бенхамом и Гукером и целиком принято Энглером и Прантлем и Таубертом [2]. Оно держалось до 1964 г., когда Хатчинсон, опираясь на огромный материал, накопленный систематикой растений за 100 лет, разделил семейство на 50 триб, охвативших 483 рода и около 12 000 видов. Эта новая классификация, основанная на принципах филогении, классификация в которой каждый таксон помещен в порядке эволюционной прогрессивности, очень интересна и с биохимичес-

кой точки зрения. Систематики недавнего прошлого и современные исследователи в основу изысканий помещают систему Энглера, изложенную Таубертом и принятую рядом флор и, в частности «Флорой СССР».

Современная систематика требует немалой работы по уточнению таксонного положения многих представителей семейства и, конечно же, использование самых передовых методов исследований. Среди таких методов особо выделяют метод электрофореза запасных белков семян в полиакриламидном геле. Этот метод, применяется нами для идентификации исследуемых представителей семейства Fabaceae L. Под идентификацией мы, прежде всего, понимаем составление так называемого генетического паспорта вида, определение его положения среди таксонов, выявление новых, более мелких таксонов, таких как «субпопуляция» на основании выявленных белковых маркеров [1].

Белки являются высокоспецифичными биологическими молекулами. С этой точки зрения эти вещества идеально подходят в качестве молекулярно – генетических маркеров, как первичные продукты генетических систем организма [4].

В биохимии и генетике понятия о маркерах сходны, хотя и наблюдаются некоторые различия. В биохимии это в основном метчик, а в генетике маркером принято называть ген, локализация которого известна исследователю, и по которому можно выявить локализацию других генов. В практике генетического анализа исследователь имеет дело не с самим геном – маркером, а с его фенотипическим выражением, представляющим собой хорошо различимый, дискретный [6], тог есть качественный признак. Такой признак можно рассматривать как фактор

идентификации соответствующего ему гена, то есть, как маркер самого гена, а так же сцепленных с ним других генов [3].

Исходя из представлений о сопряженности генетических и морфологических систем в организме, для белка расширяется сфера его маркирования: белок может быть использован для выявления генов и генетических систем, расположенных в разных местах генома, если они связаны с геном белка – маркера функционально. Такая связь всегда существует и осуществляется через метаболические пути или гормональные системы. Это то, что Конарев назвал функциональным сцеплением согласованно регулируемых генов. Это одно из важнейших преимуществ белковых маркеров перед ДНК-маркерами. Генетические маркеры играют важную роль в определении наследственной конституции организма и являются одним из главных вспомогательных средств селекции. До недавнего времени для этого использовались морфологические признаки. Однако набор их по сравнению с числом генов и генетических систем в организме весьма ограничен. К тому же подавляющая часть их не стабильна, зависит от условий развития организма. Совершенно новые возможности появились с привлечением белковых признаков, которые положены в основу принципов и методов маркирования белками генетических систем растения. Сущность этих принципов состоит в следующем.

Белок – первичный продукт генома, и путь от гена до белкового признака значительно короче, чем до морфологического или биохимического. Соответственно белковый признак меньше всего подвержен фенотипической изменчивости.

Белок обязательный продукт генетических систем и только через него идет реализация генетической информации в морфогенезе. Это значит, что белок может быть маркером любой генетической системы. Исключения составляют лишь некоторые из них, например системы транспортных, рибосомальных и других видов РНК, обеспечивающих синтез белка и сам процесс трансляции.

В семена двудольных, преобладают запасные белки. Синтезируются они по типу

секреторных белков, т. е. в эндоплазматическом ретикулуме запасующих клеток, и откладываются в виде белковых тел. В биохимическом отношении запасные белки двудольных представляют собой глобулины с довольно сложной четвертичной структурой молекулы.

Существуют два основных типа запасных глобулинов – тип легумина с условным обозначением по коэффициенту седиментации 11S и тип вицилина 7S. Классические белки этих типов – легумин и вицилин – свойственны всем бобовым, но типичными являются особенно для трибы виковых. Легумин состоит из множественных форм гетерогексамеров, сложенных из различающихся, в той или иной степени, субъединиц. Последние имеют молекулярную массу порядка 60 кДа и связаны между собой нековалентно. В присутствии меркаптоэтанола они распадаются на два полипептида: один кислого характера с молекулярной массой 40 кДа, другой основного характера с молекулярной массой около 20 кДа. В отличие от легумина вицилин очень беден цистеином (отдельные полипептиды лишены его) не способен к образованию внутримолекулярных связей. Субъединицы вицилина отличаются склонностью к ассоциации с образованием гетеромеров – тримеров, иногда тетрамеров и даже гетерогексамеров. Молекулярная масса субъединиц в основном находится в пределах 50-75 кДа. По элементарному составу белков интересны многие виды астрагала, у которых роль серы в белках играет селен.

Каждый белок это уникальный продукт своего гена. Он наилучшим образом отражает характер своего гена и является его самым надежным маркером. Гены сопряжены в генетические системы разных уровней сложности, локализованы в конкретных хромосомах, которые в свою очередь, составляют часть генома, а значит, белок может выступать в качестве маркера этих уровней. Метод электрофореза позволил нам определить некоторые формы вида *Hedysarum grandiflorum* Pall., которые различались окраской семян, и есть большая вероятность выделить для этих форм отдельные морфологические и биохимические маркеры. Кста-

Таблица 1. Полипептидный состав запасных белков семян *Astragalus cicer* L.

Позиции компонентов по шкале															
7S-глобулины		12S-глобулины, полипептиды													
		Кислые, до 45 кДа							Основные, до 23 кДа						
Astragalus cicer L., Приуралье															
10	16	33	35	37	40	50	53	55	60	65	70	80	84	90	103
2	2	1	1	2		2	1	2		2	1	1	2	2	2
2	2	1	1	2		2	1	2		2	1	1	2	2	2
2	2	1	1	2		2	1	2		2	1	1	2	2	2
2	2	1	1	2		2	1	2		2	1	1	2	2	2
2	2	1	1	2		2	1	2		2	1	1	2	2	2
2	2	1	1	2		2	1	2		2	1	1	2	2	2

ти следует упомянуть, что термин «маркер» используемый в последнее время перекликается в своем содержании с термином «фен» [6]. Помимо того, что метод позволяет определить глубже исследовать генетику вида, он позволяет проследить, в какой то степени, его эволюцию. Исследуя семейство бобовых, Благовещенский А.В. и др. обратили внимание на массу семян и содержание азота в семенах разных видов. Исследование пришло к выводу, что самым эволюционно древним, можно считать такой вид, семена которого содержат меньше всего азота и обладают довольно большой массой и наоборот, вид, семена которого содержат высокий процент азота и относительно низкую массу можно считать молодым и прогрессивным. Ряд исследователей использовали в этой связи понятие «эволюционный возраст таксона». В нашем исследовании намечается изучить эволюционный возраст исследуемых таксонов, с помощью анализа электрофореграм запасных белков растений. Верхнюю часть спектра электрофореграм занимают относительно молодые белки – глобулины. Наблюдая за степенью полиморфизма этих белков, и за тем, насколько ярко представлены их позиции, можно определить насколько изучаемый нами вид эволюционно молод или стар.

Сравнивая элетрофореграммы одного и того же вида иногда можно обнаружить очень высокую степень полиморфизма и даже выделить ряд новых таксонов внутри вида или даже судить о наличии видов-двойников: практически абсолютно схожих морфологически, но отличающихся в своей генетической структуре (табл. 1, 2, 3). Подобная ситуация возникла при изучении трибы

виковых [5]. И напротив изучаю популяцию астрагала хлопунца – *Astragalus cicer* L., мы обнаружили практически полное отсутствие полиморфизма. Учитывая большую долю семенного размножения, можно придти к мысли о чрезвычайно развитой степени близкородственного скрещивания у этих растений. Изучаю, морфология и биологию произрастания *Astragalus cicer* L., мы обнаружили, что заросли этого астрагала, были образованы практически растениями-клонами. Растения активно образует подземные побеги, которые распространяются на большие расстояния и образуют особи-клоны. В этом случае можно говорить о наличии субпопуляции, хотя такой вывод делается по результатам анализов многочисленных биохимических и морфологических признаков. В отличие от *Astragalus cicer* L., особи вида *Hedysarum grandiflorum* Pall., растут довольно далеко друг от друга, для него характерно опыление ветром и насекомыми. Биология этого вида подтверждается и нашими исследованиями с точки зрения генетики. Электрофоретический анализ показал определенную степень полиморфизма этого вида. Причем полиморфизм оказался не только на генетическом, но и на морфологическом уровне. При сборе семян, мы обращали внимание на их окраску. Были обнаружены три группы особей выделенных нами по различию в окраске семян, во всех остальных морфологических признаках они были одинаковы. В первую группу входили растения со светло-коричневыми семенами, во вторую группу входили растения с темно коричневыми семенами, а в третью – растения, семена которых имели пятнистую окраску, причем пятна были светло- и темно-коричнево-

Таблица 2. Полипептидный состав запасных белков семян *Astragalus danicus* Retz.

Позиции компонентов по шкале																
7S-глобулины					12S-глобулины, полипептиды											
					Кислые, до 45 кДа						Основные, до 23 кДа					
Astragalus danicus Retz., Приуралье.																
10	15	23	24	37	44	50	53	55	60	65	70	80	84	86	90	106
2	2	2			2	1				1		2	1		2	1
2	2	2	1	1	2	1				1		2		1	2	1
2	2	2			2	1				1		2	1		2	1
2	2	2	1	1	2	1				1		2		1	2	1
2	2	2			2	1			1	1	1	2	1		2	1
2	2	2	1	1	2	1			1	1	1	2		1	2	1

Таблица 3. Полипептидный состав запасных белков семян *Trifolium pratense* L.

Позиции компонентов по шкале																
7S-глобулины					12S-глобулины, полипептиды											
					Кислые, до 45 кДа						Основные, до 23 кДа					
Trifolium pratense L., Приуралье.																
10	15	26	28	37	40	50	53	55	60	70	75	80	84	86	90	106
1			2	2	2	1				2	2			1	1	
1			2	2	2	1				2	2			1	1	
1			2	2	2	1				2	2			1	1	
1			2	2	2	1				2	2			1	1	

го цвета. Такое явление можно расценить как проявление гибридизации разных форм этого копеечника. В случаях высокой гибридизации вида, когда практически невозможно сказать, представляет ли определенный вид целостный таксон или в нем уже произошли изменения позволяющие разделить его на несколько видов-двойников, или даже обнаружить иную степень родства, чем считалось ранее, следует отметить высокую точность

метода белкового маркирования путем электрофореза запасных белков. Ниже приведены некоторые данные по полипептидному составу запасных белков семян некоторых представителей семейства бобовых.

Компоненты слабой интенсивности в данной методике принимают за 1 балл, сильной интенсивности (яркие) за 2 балла. Очень слабые компоненты обычно не регистрируются при прочтении спектра.

Список использованной литературы:

1. Авдеев В.И., Генетика растений с основами селекции. Оренбург, 2002. – 228 стр.
2. Биохимия бобовых растений. Москва: Наука. 1967. – 88 стр.
3. Грант В., Видообразование у растений. Москва: Мир, 1984. – 528 стр.
4. Конарев В.Г., Морфогенез и молекулярно-генетический анализ растений. Издание второе, дополненное. Санкт-Петербург, 2001. – 418 стр.
5. Потокина Е.К. Биосистематика *VICIA aggr.SATIVA* L.: автореф. дис...к-та биол. наук. – Ленинград, 1990. – 18 стр.
6. Яблоков А.В., Ларина Н.И., Введение в фенетику популяций. Новый подход к изучению природных популяций. М., «Высшая школа». 1985. -158 стр.