

УДК 575.116:633.1

В. А. Топтіков¹, канд. біол. наук, ст. наук. співроб., **Л. Ф. Дьяченко**¹, канд. біол. наук, пров. наук. сп., **В. М. Тоцький**¹, д-р біол. наук, проф., зав. каф., **Л. Т. Бабаянц**², канд. біол. наук, гол. наук. сп.

¹ Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

² Селекційно-генетичний інститут УААН, відділ фітопатології та ентомології, Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна

ЕКСПРЕСИВНІСТЬ ГЕН-ЕНЗИМНИХ СИСТЕМ У СПОРІДНЕНИХ ЛІНІЙ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ, СТІЙКИХ ДО МІКОПАТОГЕНІВ

Проведено електрофоретичний розподіл ізоформ пероксидази, фенолоксидази, естераз, супероксиддисмутази та ксантиноксидази близькоспоріднених ліній озимої м'якої пшениці, які містять інтрогресовані від *Aegilops cylindrica* гени стійкості до мікопатогенів. Досліджувані лінії відрізняються між собою та від батьків електрофоретичними спектрами ферментів. Експресія структурних генів досліджуваних ферментів у лінії гібридного походження не є результатом простої, адитивної взаємодії відповідних генів батьків. Можливі різні варіанти цієї взаємодії: незмінність прояву у порівнянні з вихідними формами, підсилення або зменшення рівня експресії та виникнення в спектрах ферментів інших, нових комбінацій ізоформ. Вираженість переважної більшості досліджуваних показників електрофоретичних фракцій ферментів корелює з встановленою та теоретично передбачуваною у них кількістю *Vt*-генів.

Ключові слова: пшениця, множинні молекулярні форми ферментів, експресивність генів, *Vt*-гени.

Вивчення закономірностей фенотипового прояву окремих генів, які складають конкретний геном, дослідження впливу різноманітних чинників на експресію генів у складі цілісного генотипу мають велике теоретичне, а також практичне значення для селекції. Вагому роль в експресивності тієї чи іншої ознаки грає міжгальна та міжгенна взаємодія [1]. Результатом добору алельних та неалельних генів, який проходить під тиском умов довкілля, є формування у генотипів популяції так званих адаптивних комплексів генів — АКГ [2], які забезпечують оптимальний рівень адаптованості організмів, а в подальшому можуть визначати напрямки мікро- та макроеволюції. Відомо, що адаптація рослин до несприятливих умов обумовлена двома типами генів — специфічними та неспецифічними. Перші формують так звану вертикальну стійкість, а другі безпосередньо забезпечують процеси метаболізму, що складає основу так званої горизонтальної стійкості до несприятливих умов. Згідно із концепцією В. М. Тоцького [2], гени

специфічної стійкості грають роль інтеграторів та модифікаторів, які об'єднують та регулюють функції інших генів, генів ферментів тощо. Механізм впливу генів специфічної стійкості на формування АКГ та вимоги, яким повинен відповідати конкретний алельний склад АКГ, досі не з'ясовано. У сучасній генетиці важливим експериментальним підходом став аналіз множинних молекулярних форм ферментів, який дозволяє вирішувати низку прикладних та теоретичних питань. У зв'язку з вищезазначеним аналіз експресивності ізоформ ферментів у споріднених організмів, які відрізняються певним рівнем адаптованості, сприяє, на наш погляд, з'ясуванню генетичних механізмів філогенетичної адаптації і дивергенції у живій природі.

Метою даної роботи є порівняння електрофоретичних спектрів деяких ферментів у споріднених ліній озимої м'якої пшениці, в які інтрогресовані від *Aegilops cylindrica* Host. гени стійкості до мікопатогенів, та зіставлення спектрів цих ліній з електрофореграмами їх батьків. Роботу виконували за планом договірної бюджетної теми (держбюджет, № держреєстрації 0104U01083, код КПКВ 2201030 "Надання грантів Фондом фундаментальних досліджень", КЕКВ 1170).

Матеріали і методи

В дослідженнях використовували етіоловані тижневі паростки наступних ліній пшениці:

1) 7/31-91 та отримані після схрещувань її дочірні лінії — ф182/04, ф14 М/04, ф18 М/04, ф25 М/04, ф29 М/04, ф30 М/04, ф38 М/04, ф41 М/04, ф54 М/04, ф97 М/04;

2) 5/55-91 та її дочірні лінії — ф134/04, ф63/04, ф67/04, ф225/04, ф278/04, ф279/04, ф284/04.

Вищезазначені форми рослин створено у відділі фітопатології Одеського селекційно-генетичного інституту. Лінії 7/31-91 і 5/55-91 отримано після схрещування сорту озимої м'якої пшениці Одеська напівкарликова з *Ae. cylindrica* [3, 4]. Решта рослинних форм є результатом добору після схрещування вищезазначених ліній з Одеською напівкарликовою та лінією пшениці Л23397. Всі досліджувані лінії є генетично вирівняні, цитогенетично стабільні та мають високу або дуже високу стійкість до бурої листової іржі та твердої сажки, яка генетично має походження від дикого родича [5–7].

Досліджували наступні ген-ензимні системи: пероксидази (ПО), фенолоксидази (ФО), супероксиддисмутази (СОД), естераз та ксантиноксидази. Екстракцію та електрофоретичний розподіл множинних молекулярних форм (ММФ) ферментів провадили, як було вказано раніше [8]. В якості субстратів для виявлення ПО використовували бензидин або пірокатехін [9]. ФО ідентифікували на електрофореграмах по [10], СОД — по [11], естеразу і ксантиноксидазу — по [12].

Для аналізу електрофореграм використовували комп'ютерну програму АнаИС (М. А. Поджарський, Д. Г. Рибалка, podzharsky@ukr.net), за допомогою якої для кожної ізоформи досліджуваного ферменту визначали коефіцієнт відносної електрофоретичної рухливості (R_f), відносну частку у загальному спектрі ферменту (%) та її активність в умовних одиницях (пікселях).

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх аналіз

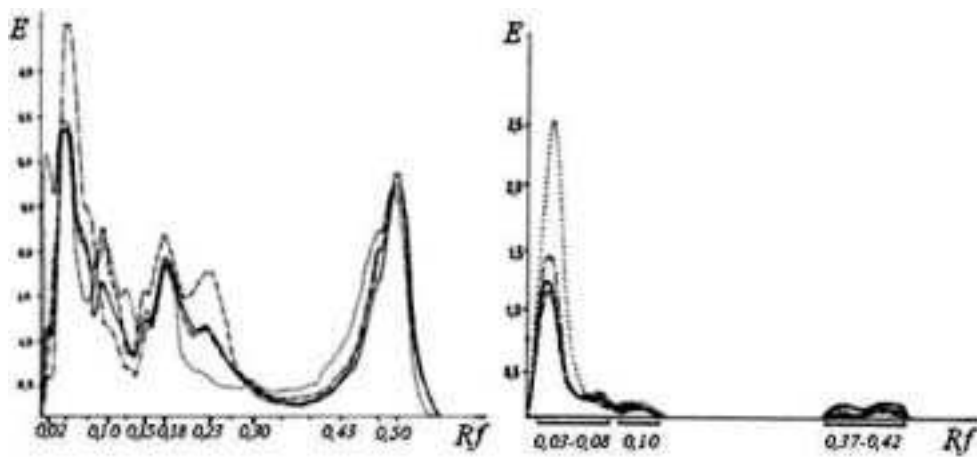
З генетичної точки зору всі досліджувані лінії дуже близькі між собою: вони отримані в результаті схрещування одних і тих же батьків. З іншого боку, всі вони характеризуються високою стійкістю до таких патогенних грибів, як збудники бурі листової іржі та твердої сажки. Генетичне походження генів стійкості до мікопатогенів у цих ліній теж однакове: відповідно *Lr*- та *Bt*- гени від *Ae. cylindrica*. В зв'язку з цим даний рослинний матеріал є цікавою моделлю для аналізу особливостей формування алельного складу АКГ з конкретними адаптивними властивостями, а також для з'ясування впливу генів специфічної стійкості на експресію генів горизонтальної стійкості, якими є досліджувані ген-ензимні системи.

Використані лінії об'єднані у дві групи (серії) відповідно походженню рослинних генотипів. Для окремої групи ліній розраховували середні показники визначених ізоформ ферментів. Ці дані наведені у вигляді денситограм, узагальнених для кожної серії ліній (рис. 1–3). Для порівняння показані спектри ферментів батьків. Видно, що за більшістю показників спектрів досліджуваних ліній обох груп ближче до Одеської напівкарликової, ніж до дикого співродича. Це цілком природно, оскільки за їх формування використовували бекроси на зазначений сорт м'якої пшениці [3, 4]. Все ж у окремих ліній проявляються певні ознаки, що властиві егілопсу.

У половині ліній (7/31-91, ф182, ф18, ф25, ф29, ф30, а також 5/55-91, ф63, ф284) за наявності в інкубаційному середовищі бензидину експресується молекулярна форма ПО з *Rf* 0,02, яка є специфічною для *Ae. cylindrica*. Лише у одній лінії (ф134) проявляється властива егілопсу ізоформа пероксидази з *Rf* 0,12 (рис. 1, а). Тому на узагальнених денситограмах піки у відповідних зонах виглядають значно меншими, ніж у випадку егілопсу. За використання в якості субстрату пірокатехіну у спектрах пероксидази зазначених ліній спостерігаються кількісні відмінності у порівнянні з *Ae. cylindrica*, але лише в повільно рухомій зоні ферменту (рис. 1, б).

Егілопсу властива сильно виражена експресія ізоформи фенолоксидази (рис. 2, а) з *Rf* 0,42: її частка від загальної активності ферменту у цьому випадку становить 5,54 %. Така і навіть більша частка зазначеної ізоформи фенолоксидази спостерігається у материнських для кожної серії ліній — 7/31-91 і 5/55-91, у яких частка зазначеної ізоформи складає 9,76 % та 6,18 % відповідно. Одеська напівкарликова виявляє слабку експресивність цієї форми ФО (2,14 % від загальної активності). Така ж низька активність спостерігається у більшості (біля 90 %) дочірніх ліній і складає в середньому $1,78 \pm 0,14\%$ ($P < 0,05$). Егілопс має меншу інтенсивність тих форм ФО, які розташовані в діапазоні *Rf* від 0,15 до 0,23, їх частка в загальному спектрі становить 19,88 %. У Одеської напівкарликової, навпаки, частка цих ізоформ є значно більшою — 30,48 %. Частина ліній (7/31-91, ф63,

ф67, ф225, тобто 16 % від їх загальної кількості) характеризується, як і дикий співродич — егілопс, меншою експресивністю зазначених ізоформ ($21,95 \pm 1,01$ % від загальної активності), інші — більш високою ($27,26 \pm 2,65$ % від загального спектру при $P < 0,01$).

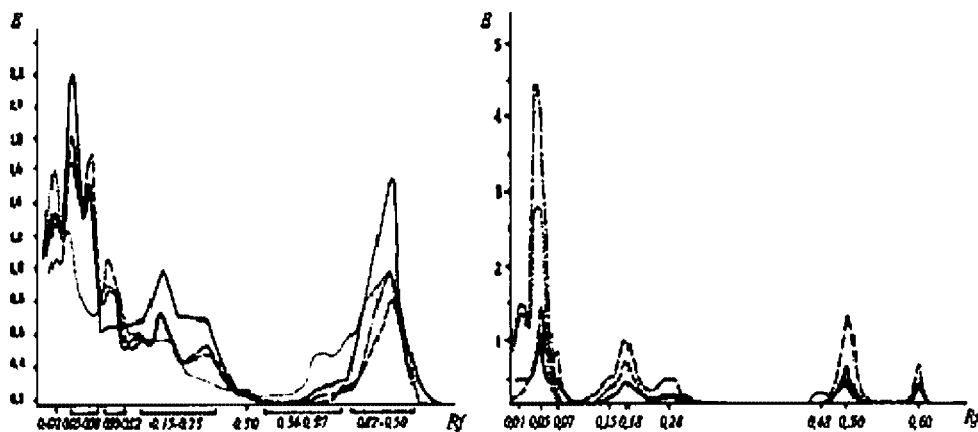


a

б

Рис. 1. Спектри пероксидази (*a* — субстрат бензидин, *б* — субстрат пірокатехін):
 — *Ae. cylindrica*, — Одеська напівкарликова, — — — — 7/31-91 та
 похідні лінії, — · — · — 5/55-91 та похідні лінії.

По осі ординат — оптична щільність в умовних одиницях (пікселях),
 по осі абсцис — електрофоретична рухливість ізоформи



a

б

Рис. 2. Спектри фенолоксидази (*a*) та супероксиддисмутази (*б*):
 — *Ae. cylindrica*, — Одеська напівкарликова, — — — — 7/31-91 та
 похідні лінії, — · — · — 5/55-91 та похідні лінії.

По осі ординат — оптична щільність в умовних одиницях (пікселях),
 по осі абсцис — електрофоретична рухливість ізоформи

Спектр СОД (рис. 2, б) у егілопса дуже бідний і містить лише 5 ізоформ. Основну частку (близько 90 %) складають малорухливі форми (R_f 0,01 і 0,05). Одеська напівкарликова має більш різноманітний спектр цього ферменту (8 форм), при цьому форми малорухливої зони складають у цього сорту лише біля 55 %. Ближчим до егілопсу є спектр СОД у ліній, отриманих після першого етапу схрещування (7/31-91 та 5/55-91). У цих ліній спектр СОД містить додатково одну-дві ізоформи, які виявляють значно меншу експресивність, ніж у Одеської напівкарликової. Решта ліній займають проміжне становище між егілопсом та м'якою пшеницею. Слід зазначити, що *Ae. cylindrica* відрізняється від інших досліджуваних рослин наявністю ММФ супероксиддисмутази з R_f 0,48. Ця форма СОД не спостерігається ні у сорту Одеська напівкарликова, ні у гібридів цього сорту з егілопсом.

Спектр ксантиноксидази (рис. 3, а) у *Ae. cylindrica* має добре помітну повільно рухливу форму з R_f 0,02, яка не виявляється у пшениці сорту Одеська напівкарликова, а також у досліджуваних ліній.

Якісними особливостями спектру естераз (рис. 3, б) у випадку егілопсу виступають дві ознаки: присутність форми з відносно електрофоретичною рухомістю 0,32 та відсутність ММФ з R_f 0,08. У Одеської напівкарликової спостерігається протилежне: немає смуги з R_f 0,32 та є форма з R_f 0,08. Більшість ліній (79 %) за спектром естераз уподібнюються м'якій пшениці. Решта ліній (21 %) займають проміжне положення. Дві з них (5/55-91 і ф134) не мають, як і егілопс, форми естерази з R_f 0,08, але у них відсутня також форма з R_f 0,32. В протилежність цьому лінії 7/31-91 та ф63 утримують обидві ізоформи естераз.

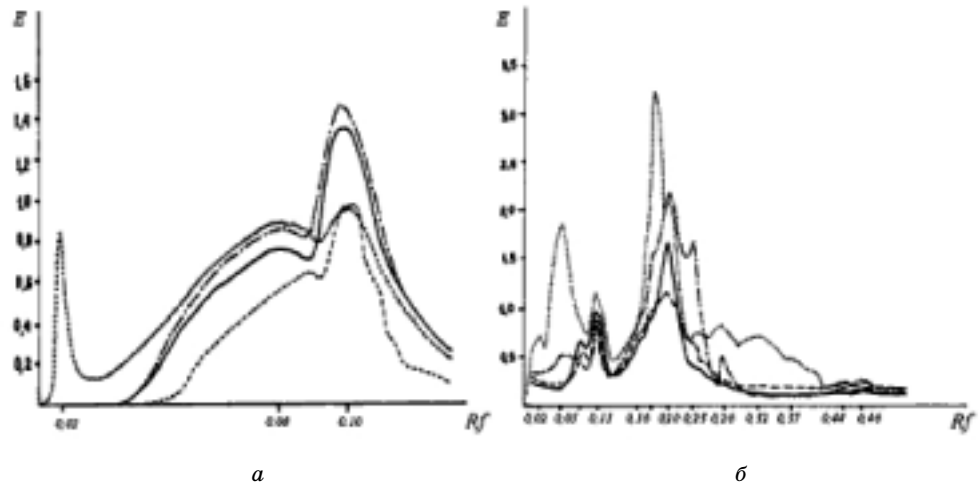


Рис. 3. Спектри ксантиноксидази (а) та естераз (б): — *Ae. cylindrica*,
 ----- — Одеська напівкарликова, ——— — 7/31-91 та похідні лінії,
 — · — · — 5/55-91 та похідні лінії.

По осі ординат — оптична щільність в умовних одиницях (пікселях),
 по осі абсцис — електрофоретична рухливість ізоформи

Наведені дані свідчать про те, що у фенотипі (у даному випадку — показники спектрів кожної лінії) виявляються лише окремі ознаки попередників, і комбінації цих ознак є досить специфічними для конкретного генотипу. Зіставлення спектрів досліджуваних ферментів у ліній та вихідних батьківських форм дозволяє зробити висновок, що експресивність ген-ензимних систем у ліній гібридного походження не є простою сумою дії наявних генів та їх алелей, або результатом певного домінування або кодомінування. У схожих генотипів можливі різні варіанти прояву генів ферментів у порівнянні з батьківськими формами: співпадіння фенотипових проявів, зростання або зменшення рівня експресії певних ознак та виникнення нових комбінацій ізоформ. Цей висновок підтверджується також аналізом білків у пшенично-житніх амфігаплоїдів F_1 , тритикале та їх батьків [13]. Складний характер фенотипового прояву досліджуваних ген-ензимних систем у ліній гібридного походження свідчить також про полігенну детермінацію цих ферментів, що збільшує гнучкість метаболізму і, тим самим, підвищує адаптивні спроможності рослин.

В таблицях 1–3 порівнюються дані, отримані за аналізом двох серій ліній, отриманих після схрещування Одеської напівкарликової зегілопсом. Представлено середні значення по кожній групі та наведено лише ті форми ферментів, для яких виявлено достовірні міжлінійні розходження. Видно, що лінії відрізняються не тільки від своїх батьків, але й, незважаючи на значну спорідненість, і між собою. Розбіжності між групами ліній були виявлені в усіх досліджуваних ген-ензимних системах за багатьма параметрами електрофоретичних спектрів.

Таблиця 1

Активність окремих ферментів та їх ізоформ у різних генотипів пшениці

Ферменти та їх ізоформи	Активність у групі ліній		Рівень достовірності розходжень між групами ліній (P)	Кореляція з кількістю <i>Vt</i> -генів (r) та рівень її достовірності (P)
	7/31-91 та похідні*	5/55-91 та похідні*		
ПО (субстрат: бензидин), <i>Rf</i> 0,05 – 0,08	375,65 ± 17,91	461,75 ± 20,60	0,006	r = - 0,51, P < 0,05
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,05 – 0,08	47,77 ± 1,60	56,91 ± 4,48	0,05	r = - 0,55, P < 0,05
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,10	9,17 ± 0,48	7,63 ± 0,52	0,04	r = 0
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,37 – 0,42	24,42 ± 1,87	14,13 ± 2,54	0,006	r = 0,68, P < 0,01
ΦO, <i>Rf</i> 0,10 – 0,12	59,49 ± 2,38	81,05 ± 7,80	0,03	r = - 0,64, P < 0,01
ΦO, <i>Rf</i> 0,15 – 0,23	271,47 ± 18,47	207,80 ± 34,22	0,014	r = 0

Закінчення таблиці 1

Ферменти та їх ізоформи	Активність у групі ліній		Рівень достовірності розходжень між групами ліній (P)	Кореляція з кількістю <i>Vt</i> -генів (r) та рівень її достовірності (P)
	7/31-91 та похідні*	5/55-91 та похідні*		
ФО, <i>Rf</i> 0,42 – 0,57	288,90 ± 10,47	263,11 ± 26,00	0,0001	r = 0
ФО, сумарна активність	1002,96 ± 30,14	882,97 ± 35,02	0,006	r = 0,46, P < 0,05
СОД, <i>Rf</i> 0,01	23,53 ± 4,54	51,89 ± 4,06	0,0002	r = - 0,43, P < 0,05
СОД, <i>Rf</i> 0,05	64,87 ± 9,93	269,94 ± 28,17	0,0001	r = 0,80, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,07	16,81 ± 2,94	4,47 ± 4,47	0,038	r = 0
СОД, <i>Rf</i> 0,15	2,42 ± 1,63	17,02 ± 3,73	0,005	r = - 0,72, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,18	32,89 ± 6,58	50,54 ± 5,95	0,05	r = - 0,47, P < 0,05
СОД, <i>Rf</i> від 0,01 по 0,05	88,40 ± 13,43	321,83 ± 30,66	0,0001	r = - 0,77, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> від 0,15 по 0,18	35,32 ± 7,92	67,56 ± 7,33	0,008	r = - 0,62, P < 0,01
СОД, сумарна активність	189,87 ± 18,89	451,66 ± 29,96	0,0001	r = - 0,83, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,16	20,57 ± 2,22	40,94 ± 4,42	0,003	r = - 0,66, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,22	26,00 ± 3,87	49,38 ± 10,47	0,033	r = - 0,44, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,26	3,89 ± 3,89	16,67 ± 3,23	0,022	r = 0
Естерази, <i>Rf</i> 0,37	1,41 ± 0,52	4,87 ± 1,58	0,043	r = - 0,47, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,44	3,11 ± 0,47	8,69 ± 1,01	0,0001	r = - 0,69, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,46	3,14 ± 0,47	8,02 ± 0,76	0,0001	r = - 0,68, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> від 0,02 по 0,18	127,27 ± 10,01	177,22 ± 18,09	0,034	r = - 0,50, P < 0,05
Естерази, сумарна активність	227,34 ± 27,30	337,35 ± 38,40	0,036	r = - 0,44, P < 0,05

Примітка: * — наведено середні арифметичні значення активності (умовні одиниці) для групи ліній та їх стандартна помилка, r = 0 — значення коефіцієнта не достовірно.

З таблиці 1 видно, що існують істотні генотипові відмінності загальної активності фенолоксидази, естераз і СОД, а також активності окремих ізоформ усіх досліджуваних ферментів. Крім різниці в активності,

кожна група ліній має також своєрідний розподіл ізоформ в спектрі окремого ферменту, про що свідчать наведені дані про відносні частки ізоформ від загальної активності відповідного ферменту (табл. 2).

Таблиця 2

Відносні частки ізоформ в спектрі окремих ферментів у різних генотипів пшениці

Ферменти та їх ізоформи	Відносні частки ізоформ у групі ліній		Рівень достовірності розходжень між групами ліній (P)	Кореляція з кількістю <i>Vt</i> -генів (r) та рівень її достовірності (P)
	7/31-91 та похідні*	5/55-91 та похідні*		
ПО (субстрат: бензидин), <i>Rf</i> 0,34 – 0,37	4,47 ± 0,18	3,91 ± 0,21	0,05	r = 0
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,05 – 0,08	59,02 ± 1,29	72,60 ± 2,54	0,001	r = - 0,80, P < 0,01
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,10	11,31 ± 0,46	9,81 ± 0,54	0,05	r = 0
ПО (субстрат: пірокатехін), <i>Rf</i> 0,37 – 0,42	29,67 ± 1,20	17,58 ± 2,63	0,002	r = 0,77, P < 0,01
ΦО, <i>Rf</i> 0,05 – 0,08	24,14 ± 0,62	28,22 ± 0,87	0,002	r = 0
ΦО, <i>Rf</i> 0,10 – 0,12	5,95 ± 0,24	9,14 ± 0,60	0,0008	r = -0,50, P < 0,05
ΦО, <i>Rf</i> 0,34 – 0,37	3,24 ± 0,12	3,69 ± 0,18	0,05	r = 0
ΦО, <i>Rf</i> 0,42 – 0,57	29,01 ± 1,39	24,30 ± 1,03	0,014	r = 0,58, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,05	34,40 ± 3,53	58,74 ± 2,85	0,0001	r = - 0,68, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,07	9,65 ± 1,64	0,79 ± 0,79	0,0003	r = - 0,68, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,15	0,99 ± 0,66	3,80 ± 0,89	0,024	r = - 0,60, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> 0,50	15,34 ± 1,85	6,89 ± 0,96	0,001	r = - 0,58, P < 0,01
СОД, <i>Rf</i> від 0,01 по 0,05	45,79 ± 4,68	70,43 ± 2,77	0,0004	r = - 0,52, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,11	19,92 ± 1,58	11,28 ± 1,03	0,0003	r = 0,65, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,20	23,31 ± 1,54	17,28 ± 1,93	0,029	r = 0,51, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,26	0,80 ± 0,80	4,82 ± 0,77	0,002	r = - 0,51, P < 0,05
Естерази, <i>Rf</i> 0,37	0,58 ± 0,18	1,29 ± 0,25	0,039	r = 0
Естерази, <i>Rf</i> 0,44	1,40 ± 0,21	2,74 ± 0,37	0,01	r = - 0,55, P < 0,01
Естерази, <i>Rf</i> 0,46	1,39 ± 0,20	2,56 ± 0,34	0,014	r = - 0,50, P < 0,05

Примітка: * — наведено середні арифметичні значення відносної частки (%) для групи ліній та їх стандартна помилка, r = 0 — значення коефіцієнта не достовірно

Таблиця 3

Співвідношення експресивності окремих ген-ензимних систем у різних генотипів пшениці

Показники	Експресивність у групі ліній		Рівень достовірності розходжень між групами ліній (P)	Кореляція з кількістю <i>Vt</i> -генів (r) та рівень її достовірності (P)
	7/31-91 та похідні*	5/55-91 та похідні*		
Специфічність пероксидази <i>Rf</i> 0,34 – 0,50	1,17 ± 0,03	2,18 ± 0,28	0,008	r = - 0,64, P < 0,01
<i>ПО / ФО</i> , <i>Rf</i> 0,34 – 0,37 (субстрат <i>ПО</i> : бензидин)	1,39 ± 0,07	1,10 ± 0,06	0,005	r = 0,66, P < 0,01
<i>ПО / ФО</i> , <i>Rf</i> 0,42 – 0,57 (субстрат <i>ПО</i> : бензидин)	1,04 ± 0,04	1,24 ± 0,07	0,034	r = - 0,48, P < 0,05
<i>ПО / ФО</i> , <i>Rf</i> 0,10 – 0,12 (субстрат <i>ПО</i> : пірокатехін)	1,95 ± 0,15	1,09 ± 0,07	0,0001	r = 0,63, P < 0,01
<i>ПО / ФО</i> , <i>Rf</i> 0,34 – 0,57 (субстрат <i>ПО</i> : пірокатехін)	0,93 ± 0,03	0,63 ± 0,10	0,018	r = 0,67, P < 0,01
Відношення ксантиноксидазної активності до супероксид-дисмутазної активності	0,47 ± 0,08	0,17 ± 0,60	0,003	r = 0,63, P < 0,01

Примітка: * — наведено середні арифметичні значення для групи ліній та їх стандартна помилка; *ПО / ФО* — відношення пероксидазної активності до фенолоксидазної активності в окремій електрофоретичній зоні

Відомо, що загальний обмін речовин живих організмів обумовлюється не тільки станом окремих ферментних систем, але й їх співвідношенням. Тому для характеристики ген-ензимних систем досліджуваних ліній застосували також деякі відносні показники (табл. 3). Визначали субстратну специфічність окремих ізоформ пероксидази, розраховуючи співвідношення частки даної ізоформи у загальному спектрі ферменту за фарбування одним субстратом (бензидином) і частки за виявлення пероксидази іншим субстратом (пірокатехином). Пероксидазна та фенолоксидазна активності тісно взаємодіють одна з одною і, можливо, пов'язані з одним білком [14]. В зв'язку з цим по кожній окремій електрофоретичній зоні розраховували відношення пероксидазної активності, яка виявлялася в цій зоні, до фенолоксидаз-

зної активності в ній. Загальний стан клітини залежить також від концентрації в ній активних форм кисню, що визначається, з одного боку, дією агентів, що сприяють виникненню активного кисню (зокрема, ксантинооксидази) та, з іншого боку, активністю агентів, знешкоджуючих його (зокрема, супероксиддисмутази та пероксидази) [15]. З таблиці 3 видно, що за вищезазначеними відносними показниками між досліджуваними лініями також існують суттєві розбіжності.

Слід зазначити, що досліджувані лінії були отримані як вихідний матеріал для селекції стійких до грибних патогенів сортів пшениці. В зв'язку з цим важливим є порівняння особливостей спектрів досліджуваних ферментів у ліній з різним рівнем стійкості до грибних хвороб. За стійкістю до бурої листової іржі обидві групи ліній достовірно не відрізняються ($7,8 \pm 0,2$ бала у лінії 7/31-91 та її похідних ліній, $8,2 \pm 0,2$ бала у 5/55-91 та її похідних). За резистентністю до твердої сажки різниця між цими групами ліній є достовірною ($7,9 \pm 0,3$ та $8,8 \pm 0,2$ бала відповідно, $P = 0,04$). Незважаючи на існуючі відмінності, досліджувані лінії за стійкістю до бурої листової іржі та твердої сажки не є контрастними і відносяться згідно з загальноприйнятими стандартами [16] до одного класу "дуже високо стійких - високо стійких" рослин, тобто до одного і того ж адаптивного типу за резистентністю до зазначених мікопатогенів. В зв'язку з цим є зрозумілим, чому в межах досліджуваної вибірки рослин кореляції між характеристиками спектрів ферментів та ознакою резистентності генотипів не виявлено. Таким чином, рівень стійкості досліджуваних рослин до мікопатогенів не пов'язаний з відмінностями електрофоретичних спектрів ферментів.

Вище було зазначено, що досліджувані лінії отримали гени стійкості до грибних хвороб у результаті міжвидового схрещування м'якої пшениці з *Ae. cylindrica*. За кількістю генів стійкості до бурої листової іржі лінії 7/31-91 і 5/55-91 не різняться між собою [4, 17], але вони мають різну кількість генів резистентності до твердої сажки (*Vt*-генів): два та один відповідно [5]. Цілком вірогідно, що похідні від зазначених ліній форми, у крайньому випадку більшість із них, будуть мати таку ж кількість *Vt*-генів, як і їх попередники. Таке припущення добре узгоджується із статистично встановленим рівнем взаємозв'язку між особливостями спектрів ферментів у ліній і встановленою та передбачуваною кількістю в них *Vt*-генів: за багатьма (39 із 49) показниками, які характеризують спектри ферментів, коефіцієнт кореляції є достовірним (табл. 1–3).

Слід відмітити, що добір за отримання досліджуваних ліній провадили на одну головну ознаку, а саме — на стійкість до грибних хвороб, внаслідок чого отримували різні за генотипом, але схожі за ознаками адаптивності лінії. На основі отриманих результатів та проведеного обговорення можна сформулювати наступні припущення. Під тиском лише одного селективного чинника можливе формування різноманітних блоків коадаптованих генів з декількома варіантами алельного складу генів, які забезпечують необхідний адаптаційний потенціал. Певна множина таких АКГ в популяції є генетичною основою вертикальної і горизонтальної стійкості рослин.

Висновки

1) Досліджувані споріднені лінії відрізняються одна від одної та від батьків електрофоретичними спектрами пероксидази, фенолоксидази, супероксиддисмутази, естераз та ксантиноксидази.

2) Експресія генів досліджуваних ферментів у лінійних рослин, отриманих після міжвидового схрещування, не є результатом простої, адитивної взаємодії генів попередників; можливі різні варіанти експресії генів: незмінність прояву у порівнянні з вихідними формами, підсилення або зменшення рівня цієї експресії, а також інші варіанти взаємодії генів.

3) Експресивність ферментів та їх окремих ізоформ досліджуваних ліній корелює із встановленою та теоретично передбачуваною у рослин кількістю *Vt*-генів.

4) Однаковий адаптаційний потенціал рослин може забезпечуватися різними варіантами адаптаційних комплексів генів.

Література

1. Тоцький В. М. Генетика. — Одеса: Астропринт, 2002. — 712 с.
2. Тоцький В. Н., Хаустова Н. Д., Алшибли Н. М., Сечняк А. Л. Генетико-біохімічні механізми онтогенетическої і філогенетическої адаптації // Цитологія і генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 69–75.
3. Бабаянц Л. Т., Рибалка О. І., Аксельруд Д. В. Нове джерело стійкості пшениці до основних хвороб // Реалізація потенційних можливостей сортів і гібридів Селекційно-генетичного інституту в умовах України: Зб. наук. праць. — Одеса, 1996. — С. 111–116.
4. Аксельруд Д. В., Рыбалка А. И., Карлюк Ю. Н., Хохлов А. Н., Нагуляк О. И. Создание гибридов озимой мягкой пшеницы с *Aegilops cylindrica*, их изучение и перспективы // Цитология и генетика. — 1997. — Т. 31, № 4. — С. 45–51.
5. Бабаянц Л. Т., Дубинина Л. А., Юценко Г. М. Выявление неаллельных известных генов устойчивости к *Tilletia caries* (DC) Tul. линий пшеницы от межвидовой гибридизации (*Triticum aestivum* x *Aegilops cylindrica*) // Цитология и генетика. — 2000. — Т. 34, № 4. — С. 32–40.
6. Мирь С. Л., Бабаянц Л. Т. Генетичні основи стійкості ліній озимої м'якої пшениці до збудника фузаріозу колоса *Fusarium graminearum* LK. // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, Вип. 1. — С. 67–71.
7. Бабаянц Л. Т., Дубинина Л. А., Барановская В. Л., Палясний В. А. Интрогрессия в пшеницу новых генов устойчивости к возбудителю твердой головни. Зб. наук. праць СГИ. — Одеса, Вип. 2 (42). — 2002. — С. 70–75.
8. Топтіков В. А., Мирь С. Л., Дьяченко Л. Ф., Тоцький В. Н., Залогина М. А. Сопряженность устойчивости озимых мягких пшениц к *Fusarium graminearum* Schwabe. и множественных молекулярных форм некоторых ферментов // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 3–11.
9. Сафонов В. И., Сафонова М. Р. Исследование белков и ферментов растений методом электрофореза в полиакриламидном геле // Биохимические методы в физиологии растений. — М.: Наука, 1971. — 113 с.
10. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений. — Л.: Агропромиздат, 1987. — 430 с.
11. Гааль Э., Медьеш Г., Верецкеи Л. Электрофорез в разделении биологических молекул. — М.: Мир, 1965. — 448 с.
12. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений. — Новосибирск: Наука, 1986. — 144 с.
13. Гордей И. А. Тритикале: Генетические основы создания. — Минск: Наука і тэхніка, 1992. — 287 с.

14. Рубин Б. А., Ладыгина М. Е. Физиология и биохимия дыхания растений. — М.: Изд-во Московского университета, 1974. — 512 с.
15. Дмитриев А. П. Сигнальные системы иммунитета растений // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 58–68.
16. Бабаянц Л. Т., Мештерхази А., Вехтер Ф. и др. Методы селекции и оценка устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ. — Прага, 1988. — С. 125–208.
17. Бабаянц Л. Т., Васильев А. А., Новицкая Н. А. Генетическая основа устойчивости межвидовых гибридов пшеницы к *Ruscinia recondata* Rob. ex Desm. f. sp. tritici // Цитология и генетика. — 1998. — Т. 32, № 6. — С. 20–26.

В. А. Топтиков¹, Л. Ф. Дьяченко¹, В. Н. Тоцкий¹, Л. Т. Бабаянц²

¹ Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

² Селекционно-генетический институт,
Овидиопольская дор., 3, Одеса, 65036, Украина

ЭКСПРЕССИВНОСТЬ ГЕН-ЭНЗИМНЫХ СИСТЕМ У РОДСТВЕННЫХ ЛИНИЙ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, УСТОЙЧИВЫХ К МИКОПАТОГЕНАМ

Резюме

Проведен электрофоретический анализ изоформ пероксидазы, фенолоксидазы, эстераз, супероксиддисмутазы и ксантиноксидазы близкородственных линий озимой мягкой пшеницы, содержащих интрогрессированные из *Aegilops cylindrica* гены резистентности к микопатогенам. Исследуемые линии отличаются по электрофоретическим спектрам ферментов как между собой, так и от родителей. Экспрессия структурных генов изучаемых ферментов у линий гибридного происхождения не является результатом простого, аддитивного взаимодействия генов предшественников. Возможны разные варианты такого взаимодействия: исходный уровень проявления, усиление или ослабление уровня экспрессии изоформ по сравнению с родителями, или появление в спектрах ферментов новых комбинаций изоформ. Особенности спектров линий по большинству признаков коррелируют с известным и теоретически предполагаемым количеством *Vt*-генов.

Ключевые слова: пшеница, множественные молекулярные формы ферментов, экспрессивность генов, *Vt*-гены.

V. A. Toptikov¹, L. F. Diachenko¹, V. N. Totsky¹, L. T. Babayants²

¹ Odessa Mechnikov National University,
Department of Genetic and Molecular Biology,
Dvoryanskaya str., 2, Odessa, 65026, Ukraine

² Plant Breeding and Genetic Institute,
Ovidiopolskaya St., 3, Odessa, 65036, Ukraine

**THE EXPRESSONAL ABILITY OF GEN-ENZYMES SYSTEMS
OF WINTER SOFT WHEAT RELATIVE RESISTANCE TO
MYCOPATHOGENES LINES**

Summary

The electrophoretical isoforms analysis of peroxidase, phenol oxidase, esterase, superoxide dismutase and xanthine oxidase of relative lines of soft wheat held the genes of resistance to mycopathogenes, introgressed from *Aegilops cylindrica* have been studied. All the investigated lines and their parental forms were different by the electrophoretical spectra of the enzymes. The manifestation of the structural genes of the investigated enzymes wasn't the result of simple additive interaction. The different variants of the genes expressional are possible. Among them are the initial level of manifestation, intensification or weakening of expression level or appearance of new gene products combinations. The peculiarities of the lines spectra by the majority of features were correlated with the certain or prospective number of *Bt*-genes.

Keywords: wheat, multiple molecular forms of the enzymes, expression ability of the genes, *Bt*-genes.