

примесей белка, фенола из-за того, что это не свежие образцы, а значит часть ДНК деградировала.

Электрофоретическое разделение полученных образцов в 1,5 % агарозном геле, дало четкие полосы на уровне 20000 п.н., что свидетельствует о выделенной геномной ДНК.

Таким образом, оптимизированная методика J. Doyle подходит для выделения ДНК из растений лаванды разного происхождения (растения, выращенные в условиях закрытого грунта; микропобеги, культивируемые в условиях *in vitro*; отобранные побеги из поля, сохраненные при -20°C в течение года). Метод основан на СТАВ буфере, без использования жидкого азота, меркаптоэтанола и ацетата натрия, что упрощает и удешевляет его.

Литература

1. Паштецкий В. С., Невкрытая Н. В. Использование эфирных масел в медицине, ароматерапии, ветеринарии и растениеводстве (обзор) // Таврический вестник аграрной науки. 2018. № 1 (13). С. 18–40.
2. Doyle J. J. Isolation of plant DNA from fresh tissue // Focus. 1990. Vol. 12. P. 13–15.
3. Ghaffariyan S., Mohammadi S. A., Aharizad S. DNA isolation protocol for the medicinal plant lemon balm (*Melissa officinalis*, Lamiaceae) // Genet. Mol. Res. 2012. Vol. 11. P. 1049–1057.
4. Vega-Vela N. E., Chacon-Sanchez M. I. Isolation of high-quality DNA in 16 aromatic and medicinal Colombian species using silica-based extraction columns // Agronomía Colombiana. 2011. Vol. 23. No. 3. P. 349–357.
5. Булавин И. В., Браилко В. А., Гребенникова О. А., Андреев М. С., Кривенко О. В., Митрофанова И. В. Оценка эффективности коммерческих наборов для выделения ДНК из лавандина (*Lavandula × intermedia emeric ex loisel.*) // Плодоводство и ягодоводство России. 2019. Т. 59. С. 286–293.
6. Великов В. А. Молекулярная биология. Практическое руководство. Саратов: Издательство «Саратовский источник», 2013. С. 84.
7. Рябушкина Н. А., Омашева М. Е., Галиакпаров Н. Н. Специфика выделения ДНК из растительных объектов // Биотехнология. Теория и практика. 2012. № 2. С. 9–26.

UDC 635.71+ 577.113.083

Zagorskaya M. S.

Some aspects of the genomic DNA isolation from lavender plants of different origin.

Summary. The method of DNA extraction from lavender plants has some difficulties. Moreover, molecular genetic studies often use not only fresh materials but also microplants from an *in vitro* culture or frozen material. For all these types of samples, the DNA isolation technique was developed, which is based on the CTAB buffer, but without the use of liquid nitrogen, mercaptoethanol and sodium acetate, which, in turn, simplifies and reduces the cost of the method.

Keywords: lavender, genomic DNA, isolation.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-91

УДК 633.63:581.143.6

Землянухина Ольга Александровна¹, Васильченко Елена Николаевна²

Сравнительное изучение физиолого-биохимических свойств гаплоидных линий *Beta vulgaris* L.

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет имени императора Петра I»

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени

А. Л. Мазлумова»

e-mail: oz54@mail.ru

В настоящее время создание новых гибридов сахарной свеклы является одним из основных направлений селекции. В этом процессе незаменимы биотехнологические приемы создания гаплоидных, а затем и дигаплоидных линий растений с целью получения гомозиготного материала. Метод гаплоидии позволяет более точно определять действие конкретного гена, связанного с селективными признаками и с характером их проявления. Использование физиолого-биохимических приемов при

этом позволяет выявить сложные биохимические взаимодействия внутри хромосомного аппарата клетки, с процессами метилирования ДНК [1].

Цель работы – исследование изоферментных спектров нескольких линий гаплоидных регенерантов сахарной свеклы в сравнении с родительскими формами для выявления наиболее интересных для дальнейшей селекции.

При выполнении исследования использованы растения селекции ФГБНУ ВНИИСС им. А. Л. Мазумова. Донорским материалом служили МС-форма (мужскостерильные формы) – КЛ, производные от нее гаплоидные линии Л1–Л3, а также фертильный донор К1 и его гаплоидные линии №№ 1–5. На основе предыдущих исследований [2] изучали изоферментные спектры 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-PDG; КФ 1.1.1.44), изоцитратдегидрогеназы (NADP-форма IDG; КФ 1.1.1.42), малик энзима (NAD-ME; КФ 1.1.1.39). Изоферментный анализ проводили с помощью электрофореза по методике Дэвиса, выявление активности ферментов – по [3]. Результаты представлены в таблице.

Таблица – Электрофоретическая подвижность изоформ 6-PDG, NADP-IDG, NAD-ME

образец R _f	К1	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	КЛ	Л1	Л2	Л3
6- PGD										
0,24	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
0,33	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
IDG										
0,26	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
0,31	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
0,37	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0,39	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
ME										
0,32	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
0,34	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-

При сравнительном анализе изоферментного спектра 6-PDG у всех гаплоидных образцов обнаружены два одинаковых компонента активности с электрофоретической подвижностью – 0,24 и 0,33. Отсутствие активности фермента у линии Л1 возможно, связано с высокой активностью супероксиддисмутазы, которая поглотила активность 6-PDG. Активность IDG у всех образцов проявляется в виде двух изоформ, однако у гаплоидов мужскостерильной линии «Л» выявлен полиморфизм: образец Л3 образует сходный рисунок с контрольным (КЛ), а образцы линий Л2 и Л3 имеют сходный рисунок активности фермента с растениями первой группы (К1, №№ 1–5). У образцов первой группы – производных фертильной формы – фермент мономорфен. Анализ электрофореграммы ME показал, что фермент мономорфен у растений первой группы и представлен одной зоной активности с R_f = 0,32. Для растений группы «Л» также показано присутствие одного компонента фермента, однако электрофоретическая подвижность выше (R_f = 0,34), чем у первой группы. Растение Л3 обнаружило одинаковый спектр IDG с растениями первой группы. Таким образом, показано, что спектры двух ферментов – изоцитратдегидрогеназы и малик энзима являются полиморфными, а фермент 6-фосфоглюконатдегидрогеназа в данном исследовании мономорфен и не может быть использован в дальнейшей селекции. Наряду с исследованными ранее изоформами 1- и 2-эстераз [4], в отборе гаплоидных линий сахарной свеклы для дальнейшей селекции пригодны три фермента, два из которых отмечены выше.

Литература

1. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений. Новосибирск: Наука, 1986, 145 с.
2. Васильченко Е. Н., Землянухина О. А. Изучение биохимических свойств гаплоидных регенерантов сахарной свеклы в культуре *in vitro* // Научный альманах. 2018. № 4-3 (42). С. 165–167. DOI: 10.17117/na.2018.04.03.164.

3. Землянухин А. А., Землянухин Л. А. Большой практикум по физиологии и биохимии растений. Воронеж: ВГУ, 1996. 188 с.

4. Васильченко Е. Н., Жужжалова Т. П., Землянухина О. З., Карпеченко Н. А. Особенности морфогенеза и молекулярно-биохимических свойств гаплоидных регенерантов сахарной свеклы // Сахарная свёкла. 2017. № 8. С. 14–20.

UDC 633.63:581.143.6

Zemlyanukhina O. A., Vasilchenko E. N.

Comparative investigation of the physiological and biochemical properties of *Beta vulgaris* L. haploid lines

Summary. The aim of the work was to study the isoenzyme spectra of several lines of haploid regenerants of sugar beet in comparison with the parent forms in order to identify the most interesting ones for further selection. The donor material was the MS-form (male-sterile form), haploid lines derived from it, as well as the fertile donor and its haploid lines. It was shown that the spectra of two enzymes – isocitrate dehydrogenase and malic enzyme are polymorphic, and the enzyme 6-phosphogluconate dehydrogenase is monomorphic and cannot be used in further selection.

Keywords: sugar beet, regenerants, selection, isoenzyme spectra, 6-phosphogluconate dehydrogenase, malic enzyme, isocitrate dehydrogenase, polymorphic.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-92

УДК 664.38

Куликов Денис Сергеевич¹, Колпакова Валентина Васильевна¹, Гулакова Валентина Андреевна¹, Уланова Рузалия Владимировна², Чумикина Людмила Васильевна³

Биотехнологические процессы переработки зерна гороха с получением концентрированных белковых препаратов

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт крахмалопродуктов – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН»;

²ФГБНУ «Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»;

³ФГБНУ «Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»

e-mail: val-kolpakova@rambler.ru

Дефицит полноценного белка приводит к увеличению интереса населения к альтернативным источникам белка [1]. Особый интерес вызывает горох, использование которого позволяет создавать технологии белковых концентратов, изолятов и ряда побочных продуктов [2].

Целью исследований явилось определение закономерностей влияния технологических факторов и ультразвукового воздействия (УЗВ) на растворимость и выход горохового белка, произведенного биотехнологическим способом.

В качестве объекта исследования использовали гороховую муку сорта «Ямал» с 88,4 % СВ, массовая доля, % на СВ: белок (Nx 6,25) – 25,7; зола – 2,67; жир – 1,46; крахмал – 51,50; углеводы – 18,76. Используются ферментные препараты (ФП) фирмы Novozymes A/S, (Дания): Shearzym 500 L, Viscoferm L, Fungamyl 800 L, AMG 300, Novozyme 25008, Distizym Protacid (фирм Erbslon). Массовую долю белка определяли по ГОСТ 10846 [3], влаги – по ГОСТ 13586.5 [4]; золы – по ГОСТ 27494 [5]; жира – по ГОСТ 29033 [6]. Аминокислотный состав (АС) определяли на хроматографе модели L-8800 фирмы “Hitachi” (Япония) в стандартном режиме анализа белковых гидролизатов. Ультразвуковую (УЗ) обработку белковой суспензии проводили на аппарате Soniprep 150 ME. Фракционный состав белков определяли по методу Осборна в модификации Бушука [7]. Обработку экспериментальных данных проводили с программами Table Curve 2D 5.1, Table Curve 3D 4.0, Mathematica 10.3 и Statistica 10.