

Ю.А. Марковская, науч. сотрудник; М.Я. Острикова, науч. сотрудник;
В.В. Трухоновец, науч. сотрудник Института леса НАН Беларуси

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕСНЫХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

In result researches of 7 gene – fermental systems *Pleurotus ostreatus* ordinary managed to be revealed 16 the variants which are taking place under the genetic control 10-ти of independent loci.

В настоящее время производство съедобных базидиомицетов (вешенки, шампиньонов и др.) получило широкое развитие [1]. Вместе с тем, несмотря на значительные успехи, достигнутые в вопросах технологии культивирования съедобных грибов [1], остаются проблемы, связанные с разработкой точных методов идентификации различных штаммов и изучением генетических различий между ними. Одним из наиболее удобных методов, позволяющих изучать генетическую структуру любого вида, является электрофоретический анализ изоферментов [2].

Целью настоящего исследования явилось изучение ряда ген-ферментных систем и описание выявленной аллозимной изменчивости хозяйственно ценного вида – вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm).

Изоферментный анализ экспериментального материала грибов, вегетативного мицелия тринадцати штаммов *P. ostreatus* из коллекции Института леса НАН Беларуси проводился с использованием метода электрофореза в крахмальном геле [3]. В ходе исследования было изучено 7 ферментных систем. Распределение ферментов по буферным системам, их название и кодовый номер [4] следующие:

Трис-Цитрат/Трис-НСI буферная система [5]: изоцитратдегидрогеназа (ИДН, К. Ф. 1.1.1.42.), малатдегидрогеназа (МДН, К. Ф. 1.1.1.37.), аспартатаминотрансфераза (ААТ, К.Ф. 2.6.1.1.), супероксиддисмутаза (SOD, К.Ф. 1.1.1.14.).

Трис-Цитрат буферная система [5]: глюкозофосфатизомераза (GPI, К. Ф. 5.3.1.9.), алкогольдегидрогеназа (ADH, К. Ф. 1.1.1.1.).

LiOH-Борат/Трис-Цитрат буферная система [4]: лейцинаминопептидаза (LAP, К. Ф. 3.4.11.1.).

Ниже приводится описание ген-ферментных систем, использованных при анализе вида вешенки обыкновенной.

Глюкозофосфатизомераза. Глюкозофосфатизомераза была представлена одной зоной ферментативной активности. В ходе исследований штаммов вешенки обыкновенной было выявлено два электрофоретических варианта - GPI^{1.00} и GPI^{1.50}. Гетерозиготные по какому-либо из локусов образцы на фореграмме окрашивались в виде трех фракций, что говорит о димерной структуре активной молекулы глюкозофосфатизомеразы.

Алкогольдегидрогеназа. При гистохимическом окрашивании гелей на алкогольдегидрогеназу была выявлена одна зона ферментативной активности, представленная двумя электрофоретическими вариантами – ADH^{0.95} и ADH^{1.00}. Электрофоретические спектры гетерозиготных индивидуумов по локусу Adh окрашивались тремя фракциями, что указывает на димерную структуру данного фермента.

Изоцитратдегидрогеназа. Изоцитратдегидрогеназа была представлена одной мноморфной зоной ферментативной активности.

Малатдегидрогеназа. При гистохимическом окрашивании гелей на малатдегидрогеназу были выявлены две основные зоны ферментативной активности. Быстро мигрирующая зона, обозначенная нами как MDH-1, у изученных штаммов вешенки оказалась мноморфной. В медленной зоне, обозначенной нами как MDH-2, было обнаружено два электрофоретических варианта – MDH-2^{1.00} и MDH-2^{1.25}. Гетерозиготные по данному локусу образцы на фореграмме выявлялись тремя фракциями, что соответствует димерной структуре молекулы MDH-2.

Лейцинаминопептидаза. Данный фермент выявлялся на фореграммах двумя зонами ферментативной активности (рис.). Изменение подвижности в каждой из зон не влияло на подвижность электрофоретических вариантов другой зоны, что указывает на самостоятельность LAP-1 и LAP-2. В ходе исследований штаммов *P. ostreatus* зона LAP-1 оказалась мономорфной, а LAP-2 была представлена тремя электрофоретическими вариантами – LAP-2^{0.90}, LAP-2^{0.95} и LAP-2^{1.00}. Спектры гетерозиготных образцов по LAP-2 были представлены двумя фракциями, что указывает на мономерную структуру данного фермента.

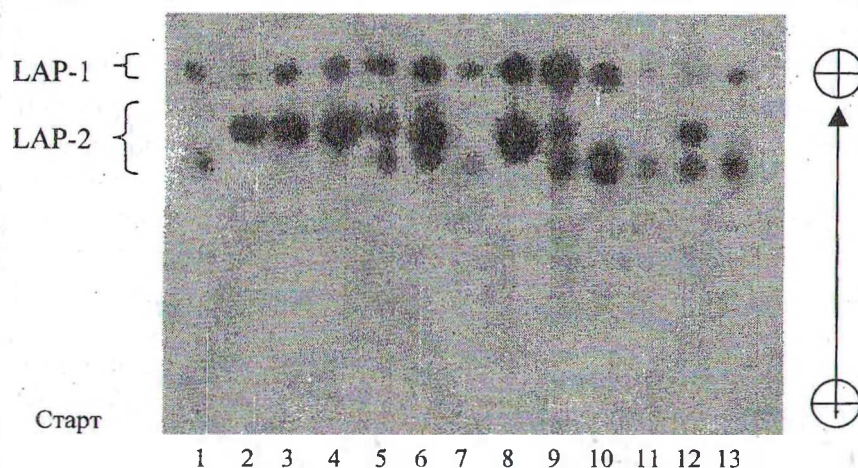


Рис. Электрофореграмма лейцинаминопептидазы образцов вешенки обыкновенной

Супероксиддисмутаза. В ходе исследований штаммов вешенки обыкновенной на супероксиддисмутазу была выявлена одна зона ферментативной активности, которая у рассматриваемых образцов оказалась мономорфной.

Аспартаминотрансфераза. Данный фермент выявлялся на фореграммах двумя зонами ферментативной активности. Изменение подвижности в каждой из зон не влияло на подвижность электрофоретических вариантов другой зоны, что указывает на двулокусный контроль ААТ. В ходе исследований штаммов *P. ostreatus* ААТ-1 оказалась мономорфной, а в зоне ААТ-2 было выявлено два электрофоретических варианта – ААТ-2^{1.00} и ААТ-2^{1.50}. Электрофоретические варианты гетерозиготных образцов по ААТ-2 были представлены тремя фракциями, что указывает на димерную структуру данного фермента.

В целом в ходе электрофоретического исследования 7 ген-ферментных систем штаммов вешенки обыкновенной удалось выявить 16 электрофоретических вариантов, находящихся под генетическим контролем 10 независимых локусов. Исследованные ферментные системы после проведения генетического анализа будут использованы в качестве генетических маркеров для паспортизации штаммов *P. ostreatus*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Трухоновец В.В., Бабицкая В.Г., Щерба В.В. Сравнительная оценка химического состава и антиокислительной активности плодовых тел и глубинного мицелия съедобных базидиальных грибов *Pleurotus* и *Lentinus* // Проблемы лесоведения и лесоводства: Сб. науч. тр. / Институт леса НАНБ. – Гомель, 2001. – Вып. 52. – С. 90–114.
2. Левонтин Р. Генетические основы эволюции: Пер. с англ. – М.: Мир, 1978. – 350 с.
3. IUPAC – IUB Commission on Biochemical Nomenclature. The Nomenclature of multiple forms of enzymes // Arch. Biochem. Biophys. – 197. – Vol. 147. – № 1. – P. 1–3.
4. Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е., Потенко В.В., Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. – Гомель, Госкомитет СССР по лесу, 1989. – 64 с.
5. Гончаренко Г. Г., Силин А. Е. Популяционная и эволюционная генетика сосен Восточной Европы и Сибири. – Мн.: Тэхналогія, 1997. – 192 с.