

CZU 633.15:631.527.52

ПРОЯВЛЕНИЕ ЭФФЕКТА ГЕТЕРОЗИСА У КУКУРУЗЫ НА УРОВНЕ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ

Г.КОМАРОВА¹, А.РОТАРЬ², А.ПАЛИЙ¹, А.МИХАЛАКИ¹

¹Государственный аграрный университет Молдовы

²Институт растениеводства «Порумбень»

Abstract. The aim of the present work consisted in the study of maize heterozygosis effect revealing at the protein molecular level. The analysis of specific polymorphism of zein molecular forms (ZMF) allows carrying out zein markers identification of hybridization for 12 zoning hybrids of maize and their 11 parental hybrid combinations. It was shown that the index of hypothetical heterozygosis revealing of protein markers sum consist 100% independent from studied parental genotypes. This is the quantitative confirmation of the early revealed qualitative properties of protein profiles codominant character of heredity. In the same time the utilization at the protein molecular level of real heterozygosis index and dominant index of ZMF helps to identify their different role in appreciation of maize hybridization revealing.

Key words: Gene, Heterosis, Hybrid, Maize, Polymorphism, Protein, Zein.

ВВЕДЕНИЕ

Создание высокопродуктивных гибридов сельскохозяйственных растений основано на результатах экспериментального исследования и теоретического обобщения фактов, связанных с одним из важнейших биологических явлений – эффектом гетерозиса (Малецкий, 2004, www.bionet.nsc.ru). Успешное использование феномена гетерозиса в практической селекции является главным аргументом необходимости выбора диагностически ценных экспериментальных показателей. Большая трудоемкость используемых в селекционной практике методов подбора родительских пар, с одной стороны (Гетерозис, 1961; Palii, 1998, Allard, 1999) и весьма существенные успехи в изучении полиморфизма белков и нуклеиновых кислот, как маркеров селекционно-генетического материала, с другой (Дринич и др., 2003; Сидорова и др., 2004; Кожухова и др., 2005), являются, соответственно, причиной расширяющегося поиска эффективного применения методов биохимической генетики для установления возможностей прогнозирования гетерозиса на молекулярном уровне (Comarova & all, 2005). Исходя из вышеизложенного, цель представленной работы состояла в изучении степени проявления эффекта гетерозиса у кукурузы на уровне молекулярных форм спирторастворимого белка кукурузы – зеина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве биологического материала использовали 12 районированных гибридов кукурузы и их родительские формы: 11 простых гибридных комбинаций и 26 самоопыленных линий, созданных в Институте растениеводства «Порумбень» и на кафедре селекции, генетики и биотехнологии сельскохозяйственных культур ГАУМ. Электрофоретическое изучение запасного белка зерна кукурузы – зеина проводили в соответствии с молдавским стандартом SM 233:2003 (Rotari et al., 2003). Расчет формул полученных электрофоретических спектров осуществляли в соответствии с методом Конарева и др. (1987). Изучение степени и характера проявления гетерозиса на гибридах первого поколения по следующим параметрам: эффект гипотетического гетерозиса (*Hip*), реального гетерозиса (*Hreal*) и коэффициента доминирования, проводили по Абрамовой (1992) и Комаровой (1999).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первичный анализ полученных электрофоретических спектров зеина и рассчитанных на их основе формул свидетельствует, что линии, используемые в качестве родительских форм изученных районированных гибридов кукурузы, характеризуются достаточно широким диапазоном варьирования: от 9 до 25 молекулярных форм, составляющих зеиновый комплекс эндосперма изученных генотипов. Белковые профили гибридных семян характеризуются большим

числом молекулярных форм зеина (МФЗ). Так, для простых гибридных комбинаций, являющихся родительскими формами, число МФЗ варьирует от 21 до 28, однако сам диапазон варьирования - сужается. Анализ полиморфизма зеина у всей изученной совокупности районированных гибридов кукурузы выявил максимальный диапазон колебаний числа МФЗ: от 15 до 33.

Для более всестороннего изучения эффекта проявления гетерозиса у районированных гибридов кукурузы и их гибридных родительских форм по белковым профилям было также важно систематизировать информацию о специфике проявления (в количественном аспекте) зеиновых маркеров гибридности у изученных районированных гибридов кукурузы и их гибридных родительских комбинаций.

Как свидетельствуют данные таблицы 1, каждый из трёх изученных простых районированных гибридов кукурузы имеет белковые маркеры гибридности со специфическим их распределением как по генотипу их родителей, так и по зонам миграции. Для гибрида Молдавский 291 МВ белковые маркеры гибридности определяются только отцовской родительской формой. Белковый электрофоретический спектр гибрида Кишиневский 307 ВБВЛ обогащен молекулярными формами зеина исключительно за счёт его материнской формы КЛП 7. В то же время визуальная идентификация гибридности простого районированного гибрида Молдавский 450 МВ может быть проведена за счёт белковых маркеров как материнской, так и отцовской родительской линии. Среди 11 родительских гибридных комбинаций, только одна гибридная комбинация Муза М представляет собой результат скрещивания двух сестринских линий, которые характеризуются ЭФ спектрами, полностью идентичными друг другу и, следовательно, сопоставление этих спектров не выявило зеиновых маркеров гибридности. Остальные 10 изученных гибридных комбинаций обладают широким диапазоном белковых маркеров как по материнской, так и по отцовской линии, в зависимости от сочетания родительских генотипов в отдельно анализируемой гибридной комбинации: от 2 до 16 МФЗ. По двум следующим группам: трёхлинейных и двойных межлинейных районированных гибридов кукурузы отмечено, что общий количественный уровень зеиновых маркеров увеличивается. Особое внимание обращают на себя такие гибриды, как тройной гибрид Молдавский 257 CRf и двойные межлинейные гибриды: Немо 216 CRf и Бемо 182 CRf, для которых характерен наиболее богатый суммарный спектр маркерных молекулярных форм: 17, 12 и 10 МФЗ, соответственно. Интересные зависимости прослежены также по ЭФ зонам миграции (медленная, средняя, быстрая) выявленных молекулярных маркеров зеина. Установлено (табл. 1), что независимо от типа гибрида или гибридной комбинации, количество зеиновых маркеров преобладает именно в зоне быстрой миграции.

Таким образом, проведенная идентификация конкретных зеиновых маркеров гибридности, наряду с проанализированным полиморфизмом зеина гибридов и их родительских линий, позволили подобрать и систематизировать необходимую исходную информацию для изучения эффекта гетерозиса на уровне белковых молекул.

По гипотетическому гетерозису *Hip* на всех изученных гибридных комбинациях (табл. 2), за исключением сестринской комбинации Муза М, установлен положительный эффект гетерозиса как по общей совокупности МФЗ, так и по сумме маркерных субъединиц зеина. Причем, если по первому показателю процент гипотетического гетерозиса варьирует от 5 до 44%, то по сумме белковых маркеров для всех изученных гибридных комбинаций *Hip* равен 100%, что математически подтверждает установленный ранее визуальный кодоминантный характер наследования МФЗ во всех изученных гибридных комбинациях.

Обсуждение проявления показателя реального гетерозиса *Hreal* (табл. 2) по субъединицам запасного белка зеина проводили путем сопоставления показателей истинного гетерозиса по материнской и отцовской родительским формам (Комарова, 1999). Вся изученная совокупность районированных гибридов и их родительских гибридных комбинаций по соотношению между *Hreal+* и *Hreal>* для общего количества МФЗ каждого электрофоретического спектра, а также по сумме белковых маркеров, была классифицирована на две группы (за исключением простого модифицированного гибрида Молдавский 425МВ и его родительской сестринской гибридной комбинации Муза М): первая группа - когда величина *Hreal+* преобладает над *Hreal>* и вторая группа - обратное соотношение *Hreal+* < *Hreal>*.

К первой группе относятся 6 районированных гибридов (два простых, один тройной и три

Таблица 1

Количество ЭФ компонентов, которые маркируют степень гибридности районированных гибридов кукурузы и их родительских гибридных комбинаций

№ и наименование группы	Наименование гибрида	Родительские формы								Общая сумма маркеров F1
		♀				♂				
		зона миграции				зона миграции				
		М	С	Б	Σ	М	С	Б	Σ	
I (ПГ)	Молдавский 291 MRf	0	0	0	0	1	1	1	3	3
	Молдавский 450 MRf	1	2	0	3	1	0	5	6	9
	Кишиневский 307 ВБВЛ	0	2	4	6	0	0	0	0	6
Родительские гибридные комбинации	♀ Муза М	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	♀ Лена С	1	1	2	4	0	1	2	3	7
	♀ Лаванда С	0	1	2	3	1	1	4	6	9
	♀ Дружба С	0	1	3	4	0	2	5	7	11
	♀ Лиана М	0	1	0	1	0	1	2	3	4
	♀ Ладья М	2	1	1	4	1	4	2	7	11
	♀ Астра М	0	0	2	2	0	0	0	0	2
	♀ Лада С	1	4	1	6	1	3	5	9	15
	♂ Ландыш CRf	2	2	5	9	2	2	3	7	16
	♂ Лион MRf	0	0	4	4	0	1	0	1	5
♂ Атлас MRf	0	0	3	3	1	2	3	6	9	
II (ПМГ)	Молдавский 425 MRf	0	2	0	2	0	0	2	2	4
III (ТГ)	Порумбень 170 CRf	1	1	0	2	0	1	2	3	5
	Бемо 181 CRf	1	0	4	5	0	1	2	3	8
	Молдавский 257 CRf	3	4	4	11	2	1	3	6	17
	Молдавский 411 MRf	0	2	2	4	0	0	0	0	4
IV (ДМГ)	Бемо 182 CRf	1	0	2	3	2	3	1	7	10
	Молдавский 215 MRf	1	1	2	4	0	0	2	2	6
	Молдавский 330 MRf	0	0	2	2	1	0	4	5	7
	Немо 216CRf	2	0	3	5	1	3	3	7	12

Условные сокращения к табл. 1 и 2: ПГ – простые гибриды; ПМГ – простые модифицированные гибриды; ТГ – трехлинейные гибриды; ДМГ – двойные межлинейные гибриды; М- зона медленной миграции ЭФ компонентов зейна ($rf < 0,4$); С – зона средней миграции ЭФ компонентов зейна ($0,4 < rf < 0,6$); Б – зона быстрой миграции ЭФ компонентов зейна ($rf > 0,6$); F1 – гибрид первого поколения; S – сумма маркерных зон гибридности целого ЭФ спектра зейна.

двойных межлинейных гибридов) и 6 родительских простых гибридных комбинаций: Лаванда С, Дружба С, Лиана М, Ладья М, Лада М и Атлас MRf. Исходя из сути интерпретации показателя истинного гетерозиса для *Hreal* по одной из родительских форм, можно констатировать, что “гибридные” спектры указанных гибридных комбинаций превосходят по общей сумме МФЗ и, особенно четко, по сумме белковых маркеров, именно материнские формы. Следовательно, в этом случае отцовские родительские формы определяют маркеры гибридности. Во вторую группу изученных гибридов, для которых истинный гетерозис по отцовской форме преобладает над показателем *Hreal+* были отобраны 4 родительские простые гибридные комбинации: Лена С, Астра М, Ландыш CRf, Лион MRf и 5 районированных гибридов: простой гибрид Кишиневский 307 ВБВЛ, тройные гибриды Бемо 181CRf, Молдавский 257 CRf, Молдавский 411 MRf и один двойной гибрид Молдавский 215 MRf. Таким образом, в этой группе потенциальным носителем большего количества маркеров гибридности является не

Таблица 2
Характер проявления гипотетического гетерозиса (Hr, %), реального гетерозиса (Hreal, %) и коэффициента доминирования (H) по молекулярным формам зейна (МФЗ) у районированных гибридов кукурузы и их родительских гибридных комбинаций

№ группы	Наименование гибрида	Hr, %		Hreal, %						H	
		по общей сумме	по сумме маркеров	по общей сумме		по сумме маркеров		по общей сумме	по сумме маркеров		
				Hr ♀	Hr ♂	Hr ♀	Hr ♂				
I (ПГ)	Молдавский 291 MRf	7	100	14	0	?	0	0	1	1	
	Молдавский 450 MRf	20	100	29	13	200	50	3	3		
	Кипишевский 307 ВВВЛ	25	100	0	67	0	?	3	1		
♀ (ПГ)	Муза М	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Лена С	17	100	14	20	75	133	7	7		
	Лаванда С	24	100	35	15	200	50	3	3		
	Дружба С	28	100	40	19	175	57	3.7	3.7		
	Лиана М	9	100	14	4	300	100	2	2		
	Ладья М	28	100	39	19	175	57	3.7	3.7		
	Астра М	5	100	0	11	0	?	1	1		
♂ (ПГ)	Лада С	39	100	50	29	150	67	5	5		
	Ландыш CRf	44	100	33	56	78	129	5.7	8		
	Люк MRf	13	100	5	22	25	400	1.7	1.7		
II (ПМГ)	Атлас MRf	24	100	37	13	200	50	2.5	3		
	Молдавский 425 MRf	10	100	10	10	100	100	?	?		
III (ТГ)	Порумбень 170 CRf	10	100	13	8	150	67	5	5		
	Бемо 181 CRf	18	100	13	24	60	167	4	4		
	Молдавский 257 CRf	38	100	24	55	55	183	5.6	3.4		
IV (ДМГ)	Молдавский 411 MRf	9	100	0	20	0	?	1	1		
	Бемо 182 CRf	22	100	35	11	300	50	2.2	3		
	Молдавский 215 MRf	15	100	8	23	50	200	2.3	3		
	Moldavski 330 MRf	19	100	33	8	250	20	1.8	2.3		
	Немо 216 CRf	20	100	26	18	140	71	11	6		

отцовская, а материнская родительская форма, что подтверждается данными анализа количественного состава самих маркерных зон.

На заключительном этапе эксперимента обсуждение степени наследования субъединиц молекул зеина родительских форм в изученных гибридах и гибридных комбинациях кукурузы по коэффициенту доминирования (табл.2). Установлен промежуточный характер наследования ($H = 0$) субъединиц белка как по общей сумме МФЗ в ЭФ спектре, так и по сумме маркерных зон МФЗ только для одной сестринской гибридной комбинации Муза М. Для двух районированных гибридов Молдавский 291 МВ и Молдавский 411МВ, а также для родительской гибридной комбинации Астра М отмечено полное доминирование по общей сумме МФЗ в ЭФ спектре зеина эндосперма и по сумме белковых маркеров.

По всем остальным изученным районированным гибридам и гибридным комбинациям родительских форм установлено сверхдоминирование ($H > 1$), т.е. гетерозис по двум типам МФЗ: по их общей сумме в ЭФ спектре белка и по сумме белковых маркерных зон. Лишь у гибрида Кишиневский 307 ВБВЛ эффект гетерозиса по коэффициенту доминирования проявляется по совокупности МФЗ в белковом профиле, однако по сумме зеиновых маркеров для этого гибрида отмечено только полное доминирование ($H = 1$).

ВЫВОДЫ

1. Отмечено большое разнообразие по суммарным спектрам маркерных молекулярных форм зеина (МФЗ): от 2 до 17 пептидных компонентов. Показано, что, независимо от типа гибрида или гибридной комбинации, количество зеиновых маркеров преобладает именно в зоне быстрой миграции ЭФ субъединиц белка.

2. Показатель проявления *гипотетического гетерозиса* по сумме белковых маркеров, независимо от родительских генотипов, составляет 100%, что количественно подтверждает установленный ранее кодоминантный характер наследования МФЗ по качественным характеристикам белковых профилей.

3. Установлено, что показатели *реального гетерозиса* по материнской и отцовской форме позволяют выявлять потенциальных носителей зеиновых маркеров гибридности у родительских форм соответствующей гибридной комбинации.

4. Показано, что с помощью *коэффициента доминирования* по МФЗ можно проводить отбор тех гибридов и их родительских гибридных комбинаций, для которых эффект сверхдоминирования (гетерозиса) проявляется по двум типам анализируемых МФЗ: их общей сумме в ЭФ спектре зеина эндосперма и по сумме маркерных субъединиц зеина.

БИБЛИОГРАФИЯ

- Allard, R.W. History of Plant Population Genetics, Ann. Rev. Genetics, v.33, 1999, p.1- 27.
- Comarova, G., Paliu, A., Rotari, A. Protein Polymorphism and Heterosis, Știința Agricolă, Chișinău, № 2, 2005, p.3-7.
- Paliu, A. Genetica, Chișinău: Museum, 1998, 352p.
- Rotari, A., Comarov, Galina, Guțanu, C. Semințe de porumb. Determinarea purității biologice a liniilor consangvinizate și a gradului de hibridare la semințele hibridilor de porumb de prima generație prin metoda de electroforeză a proteinelor. Standard Moldovean SM 233:2003, Chișinău, Ed.Departamentul "Moldova-Standard", 2003, 72 p.
- Абрамова, З. В. Практикум по генетике. Москва, В. О. «Агропромиздат», 1992, стр. 161-163.
- Гетерозис. Теория и методы практического использования. Минск.1961. 266 стр.
- Дринич, М.С., Трифунович, С. и др. Генетическая дивергенция на основе SSR-молекулярных маркеров и прогнозирование гетерозиса кукурузы. Кукуруза и сорго, № 5, 2003, стр.20-22.
- Кожухова, Н.Э., Вареник, Б.Ф., Сиволап, Ю.М. Прогнозирующий потенциал ДНК-маркеров в гетерозисной селекции кукурузы. Цитология и генетика, том 39. №1, 2005, стр. 14-20.
- Комарова, Г. Е. К вопросу о методологических подходах к идентификации экспрессии генов структуры эндосперма в гибридных комбинациях кукурузы на уровне белковых молекул. Lucrări Științ. UASM, Agronomie, Chișinău, Vol.7, 1999, p.41-44.
- Конарев, В.Г., Сидорова, В.В., Тимофеев, Г.И. Методические указания по идентификации, анализу и регистрации сортов, линий и гибридов кукурузы по зеину методами электрофореза и изоэлектрофокусирования. ВИР, Ленинград, 1987, 48стр.
- Малецкий, С.И. Генетическая природа гетерозиса у растений, < www.bionet.ncs.ru >, 2004, стр. 1-8.
- Сидорова, В.В., Конарев, А.В. и др. Использование электрофоретического спектра зеина для прогнозирования гетерозиса у кукурузы, Аграрная Россия, №6. 2004, стр.17 – 21.

Data prezentării articolului - 10.10.2007