

На правах рукопису

КОЗУВ Наталія Олександрівна

ЗВ'ЯЗОК АЛЕЛЬНИХ ВАРІАНТІВ ЛОКУСІВ ЗАПАСНИХ
ВІЛКІВ З ПЕРЕДЗИГОТИЧНИМИ ПРОЦЕСАМИ ТА
КІЛЬКІСНИМИ ОЗНАКАМИ У СВИМОЇ ПШЕНИЦІ

03.00.15 - Генетика

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1993

Робота виконана у відділі біотехнології Інституту
землеробства УААН

Науковий керівник: доктор сільськогосподарських наук
професор О.О.Созінов

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук
В.А.Сидоров

кандидат біологічних наук
В.Т.Колочий

Провідна установа - Селекційно-генетичний інститут УААН,
м. Одеса

Захист відбудеться "12" листопада 1993 р.
о " " годині на засіданні спеціалізованої ради
Д.01.19.01 в Інституті клітинної біології та
генетичної інженерії АН України за адресою: 252143,
Київ-143, вул. Заболотного, 148

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Інституту
клітинної біології та генетичної інженерії АН України

Автореферат розіслано "9" вересня 1993 р.

Вчений секретар
спеціалізованої ради,
кандидат біологічних наук

Л.В.Малишева

ЛНБ України ім.В.Стефаніка



00815517 (R)

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

Актуальність теми. З початку 60-х років пшениця зайняла провідне місце у виробництві зерна в світі. В Україні вона забезпечує 60% валового збору зерна. Пшениця використовується для виробництва хліба, кондитерських і макаронних виробів, а також є добавкою в комбікорми.

Досягнуте за останні 25 років збільшення урожайності пшениці в значній мірі зобов'язане успіхам селекції. При створенні нових сортів основна увага приділяється кількісним ознакам: продуктивності, стійкості до абіотичних і біотичних стресів, якості урожаю, більшість з яких кодується багатьма генами і рівень їх проявлення змінюється під впливом умов життя. При вивченні генетики цих ознак в останні роки використовуються молекулярно-генетичні маркери, зокрема поліморфні білкові системи, компонентний склад яких визначається геномом і не змінюється під впливом умов зовнішнього середовища. Встановлено, що вивчення пов'язаності алейних варіантів біохімічних маркерів з кількісними ознаками дозволяє значно інтенсифікувати селекційний процес на етапах підбору батьківських форм для схрещення та відбору цінних генотипів. Молекулярно-генетичні маркери використовуються також для ідентифікації генотипів і вивчення генетичних процесів у популяціях. Тому важливо за допомогою цих маркерів дослідити закономірності та механізми значної зміни частот алелів у гібридних популяціях пшениці, які використовуються селекціонерами. Крім цього, якщо зв'язок генетичного поліморфізму запасних білків з ознаками якості зерна добре вивчений, то інформація про пов'язаність алейних станів цих локусів з ознаками продуктивності рослин має фрагментарний характер, тому доцільно вивчити зв'язок конкретних алейних станів локусів запасних білків і їх комбінацій з мінливістю цих ознак.

Мета і завдання досліджень. Мета роботи - ідентифікація алейних варіантів гліадинкодуєчих локусів на SDS-електрофореграмах, вивчення закономірностей формування генетичної структури гібридних популяцій пшениці ранніх поколінь після схрещення за допомогою запасних білків як генетичних маркерів і в'язування їх пов'язаності з економічно-цінними ознаками. Виходячи з цього були поставлені основні задачі досліджень:

1. Ідентифікувати алейні стани гліадинкодуєчих локусів хромосом першої гомеологічної групи на SDS-електрофореграмах і скласти їх каталог.

2. Вивчити за допомогою запасних білків як генетичних маркерів

закономірності і можливі механізми формування генетичної структури гібридного потомства озимої пшениці.

3. Вивчити вплив материнського генотипу на формування генетичної структури гібридного потомства озимої пшениці.

4. Дослідити пов'язаність алельних варіантів запасних білків з ознаками продуктивності та якості зерна у гібридних рослин пшениці.

Наукова новизна роботи. Вперше складено каталог алельних варіантів локусів Gli1A, Gli1B і Gli1D для SDS-електрофореграм.

Показано формування не випадкової генетичної структури у гібридного потомства озимої пшениці. Одержані результати дозволяють припустити існування передаєтичних процесів, напрямком і величиною яких пов'язані з алельними станами локусів запасних білків. Встановлено вплив алельних станів інших локусів запасних білків і материнського генотипу на ці процеси.

Показано, що у визначенні ознаки величина седиментації основну роль відіграють адитивні ефекти генів запасних білків. Виявлено, що мінливість ознаки кількість зерен на рослині F₂ можна описати за допомогою моделі з взаємодією двох локусів запасних білків, тому локуси запасних білків можна використовувати як генетичні маркери для аналізу ознаки кількість зерен на рослині.

Теоретична і практична цінність роботи. Каталог алельних станів гліадинокодуючих локусів для SDS-електрофореграм дозволяє ідентифікувати на SDS-електрофореграмах не тільки алельні варіанти високомолекулярних субодиниць глютенінів, а також блоки гліадинів хромосом 1-ї гомеологічної групи.

Отримані результати свідчать про необхідність врахування передзиготичних подій та ефекту материнського генотипу при аналізі генетичних процесів в популяціях, так як вони можуть бути факторами, які приводять до змін частот теоретично очікуваних співвідношень генотипів у гібридних популяціях.

На основі приведених даних показана можливість проведення цілеспрямованого підбору батьківських ліній при гетерозисній селекції пшениці на основі попереднього генетичного аналізу за допомогою запасних білків як генетичних маркерів.

Положення, які виносяться на захист.

1. У гібридного потомства даних сортів озимої пшениці розщеплення за алельними варіантами певних локусів запасних білків не відповідає очікуваному менделівському.

2. У гібридних рослин озимої пшениці виявлено елімінацію гамет, які несуть хромосому 1В з житньою транслокацією, що дозволяло припустити значну роль невідповідних передаготичних процесів у формуванні генетичної структури потомства.

3. Напрямок та інтенсивність переаготичного відбору алейних варіантів запасних білків хромосоми 1В пов'язані з алейними варіантами інших локусів запасних білків та материнським генотипом.

4. Локуси запасних білків можна використовувати як генетичні маркери для аналізу ознаки кількість зерен на рослині і для прогнозування гетерозису за цією ознакою у гібридів пшениці.

5. Ознака величина седиментації визначається, в основному, адитивними ефектами генів запасних білків.

Апробація. Матеріали дисертації доповідались на конференціях молодих вчених Інституту землеробства УААН (Київська обл., с. Чабани, 1991, 1992)

Публікації. За темою дисертації опубліковано чотири роботи.

Структура і об'єм роботи. Дисертаційна робота складається з вступу, 5 частин, висновків, списку літератури, викладена на 153 сторінках і має 10 малюнків і 39 таблиць. Список літератури включає 156 найменувань, з них - 129 іноземних авторів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для ідентифікації алейних станів гліадинкодуєчих локусів на SDS-електрофореграмах використовували набір майже ізогенних ліній за гліадиновими алейями озимої м'якої пшениці (20 ліній), отворених на основі Безостої і М.М.Копусем, а також зерна F₂ від скрещення сортів озимої пшениці Comtal x Безоста 1. Вивчали генетичну структуру за локусами запасних білків потомств від окрещень з участю лінії озимої пшениці B-16, яка несе 1B/1R транслокацію. Аналізували зерна з рослин F₂ від окрещення цієї лінії з сортом Донська напівкарликова і зерна F₂ реципрокних гібридів лінії B-16 і сорту Дннат, одержаних І.О.Созіновим і О.М.Хохловим. Аналіз зв'язку алейних станів локусів запасних білків з кількісними ознаками виконували на рослинах F₂ від окрещення B-16 x Донська напівкарликова і їх потомств. Генотип рослин F₂ за локусами запасних білків визначали за допомогою електрофоретичного аналізу 3-15 зерен від кожної рослини.

Електрофорез гліадинів проводили за модифікованню нами методикою Brzgezinski (1989), а електрофорез загального білку зерна - за

методиком Лемлі (1970) на 12,5 і 15% гелях. Алейні стани гліадинокодуючих локусів визначали за каталогом Поперелі і Собко (1986), алейні стани локусів високомолекулярних (HMW) субодиниць глютенінів - за каталогом Пейна (1983). Генетичні формули сортів пшениці за локусами, що вивчаються: Comtal - GliB4·Gli1D4·Glu1B-b·Glu1D-a; Безоста 1 - Gli1B1·Gli1D1·Glu1B-c·Glu1B-d; Б-18 - Gli1A9·Gli1B3·Gli1D4·Gli1A1·Glu1A-c·Glu1B-e·Glu1D-a; Донська напівкарликівка - Gli1A4·Gli1B7·Gli1D3·Gli1A3·Glu1A-a·Glu1B-c·Glu1D-d; Юнат - Gli1A4·Gli1B1·Gli1D1·Glu1A-a·Glu1B-c·Glu1D-d. Генотипи гібридних зерн записували з врахуванням триплоїдності ендосперму.

Показник седиментації і процентний вміст білку було визначено в лабораторії технології відділу генетичних основ селекції СГІ, УААН (Одеса).

Для перевірки відповідності фактичного розщеплення очікуваному використовували критерій χ^2 . Достовірність різниці між двома середніми величинами визначали за допомогою критерія Стьюдента, частоту рекомбінації - за допомогою програми LINKAGE-1, а для зерн F₂ також за чисельністю гамет, що утворили ці зерна, за формулою для розрахунків у потомстві від зворотнього схрещення. Типи ефектів генів запасних білків визначали за схемою, що описана Мазером і Джинксом (1985), але замість середніх значень для батьківських форм і потомств використовували середні значення у рослин F₂, згрупованих у класи на основі генотипів за двома локусами запасних білків.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ АЛЕЙНИХ СТАНІВ ГЛІАДИНОКОДУЮЧИХ ЛОКУСІВ НА SDS-ЕЛЕКТРОФОРЕГРАМАХ

1. Ідентифікація алейнів гліадинокодуючих локусів на SDS-електрофореграмах при аналізі білків зерен F₂. За допомогою порівняльного аналізу спектрів білків піоля кислого і SDS-електрофореау для кожної зернівки F₂ від схрещення Comtal x Безоста 1 були ідентифіковані аналогічні алейні стани гліадинових локусів хромосом 1B (1 і 4) і 1D (1 і 4) при використанні обох методик.

2. Ідентифікація алейних станів гліадинокодуючих локусів на SDS-електрофореграмах при аналізі майже ізогенних ліній. Білкові спектри майже ізогенних ліній по гліадиновим локусам ідентичні спектру Безоста 1, за винятком деяких смуг, які відповідають певному блоку компонентів гліадинів, перенесених від сортів-донорів. Ідентифікація блоків гліадинів проводилась порівнянням SDS-елект-

рофореграм зерен реципієнта (Веаоста 1) зі спектрами ізогенних ліній, а також попарним порівнянням спектрів ліній. Каталог цих алейних варіантів гліадинокодувчих локусів приведено на рис. 1 і 2. Номери алейів відповідають номерам в каталозі Попереді і Собко (1986). Для локуса Gli1A було проаналізовано 6 алейних варіантів (Рис.1). Для Gli1D було проаналізовано майже ізогенні лінії з 4 різними блоками (Рис.1), причому блоки 4 і 6 не відрізнялись. Для локуса Gli1B ідентифіковано 10 алейів (Рис.2). З них один варіант, позначений n, не входив у каталог, складений за допомогою кислого електрофорезу. Оскільки з гліадинокодувчими локусами тісно зчеплені локуси, що кодують LMW субодиниці глютенинів, можливо, що деякі компоненти блоків гліадинів, ідентифіковані на SDS-електрофореграмах, є LMW субодиницями глютенинів. Ідентифікація алейних станів гліадинокодувчих локусів на SDS-електрофореграмах значно полегшує роботу, так як в цьому випадку для визначення алейних варіантів гліадинів і NMW субодиниць глютенинів зернівки необхідно тільки один тип електрофорезу.

ЗВ'ЯЗОК ПЕРЕДАЙГОТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ У ПШЕНИЦІ

З АЛЕЙНИМИ ВАРІАНТАМИ ЛОКУСІВ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ

1. Вивчення передайготичних процесів у комбінації скрещення B-16 x Донська напівкарликова. Вивчення розщеплення за алейними варіантами локусів запасних білків рослини F₂, одержаних від скрещення B-16 x Донська напівкарликова, показало, що для локуса Gli1B розщеплення відрізняється від очікуваного (чисельності генотипів Gli1B7.7, Gli1B3.7 і Gli1B3.3 дорівнюють 183, 301, і 122, $\chi^2=12,3$, P < 0,01). Оскільки в досліді практично не опостерігалось загибелі рослин, можна припустити, що порушення очікуваного співвідношення відбулось при утворенні зерен F₂, тобто на передайготичній стадії.

В цьому досліді було також встановлено, що кросинговер між локусами Gli1B і Glu1B в значній мірі пригнічений і складає 13,5 ± 1,3 % замість очікуваних 50 %. Оскільки величина рекомбінації приблизно відповідає відстані від локуса Glu1B до центромери, можна припустити, що транслокація житнього матеріалу відбулась по центромері або поблизу неї.

Для дослідження передайготичних процесів аналізували також розщеплення по локусам NMW субодиниць глютенинів у зерен з рослин F₂. Для цього з кожної рослини F₂ брали по 3 зернівки для утворення випадкової вибірки зерен F₃. Також аналізували розщеплення у гетерозиготних по певному локусу рослин F₂. Виявлено, що для обох ви-

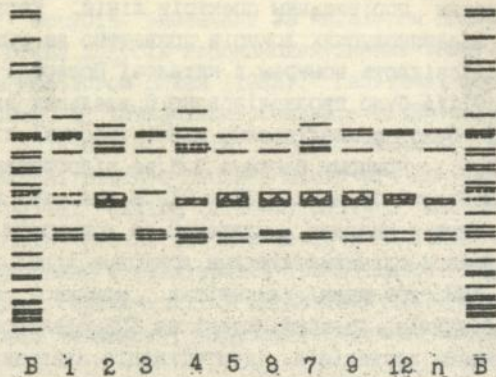


Рис. 1. Каталог алельних варіантів локуса Gl11B на SDS-електрофореграмах. Позначення під рис. відповідають номерам алелів локуса Gl11B за каталогом Поперелі і Собко В - спектр білків Везостої 1.

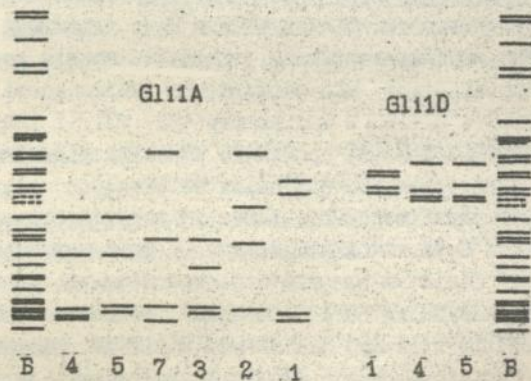


Рис. 2. Каталог алельних варіантів локусів Gl11A і Gl11D на SDS-електрофореграмах. Позначення під рис. відповідають номерам алелів локусів Gl11A і Gl11D за каталогом Поперелі і Собко. В - спектр білків Везостої 1.

бірок розщеплення за алейними станами Glu1B відрізнялось від очікуваного і характеризувалось зменшенням кількості особин з Glu1B-е.е.е (чисельності генотипів Glu1B-с.с.с, Glu1B-с.с.е, Glu1B-е.е.с і Glu1B-е.е.е дорівнюють 563, 182, 159 і 481, χ^2 -9,91, $P < 0,05$ і 245, 243, 207 і 196, χ^2 -8,39, $P < 0,05$, відповідно, для вибірки зерен F₃ і для зерен з рослин-гетерозигот за Glu1B). Зміщення відбулось за рахунок зниження чисельності яйцеклітин з Glu1B-е (чисельності яйцеклітин з Glu1B-с і Glu1B-е дорівнюють 735 і 620, χ^2 -9,76, $P < 0,01$ для першої вибірки і 488 і 403, χ^2 -7,9, $P < 0,01$ для іншої) і практично було відсутнє для пилкових зерен. Це відхилення викликано не зиготичним відбором, оскільки в досліджуваних рослин не було черевверниці, а, ймовірно, мейотичним драйвом. Так як вище було показано достатньо тісне зчеплення Glu1B-е і Gli1B3, можна стверджувати про наявність мейотичного драйву також по локусу Gli1B, при якому елімінується хромосома 1В з житньою транслокацією, маркером якої є алей Gli1B3. Цим, можливо пояснюється зниження кількості генотипів з Gli1B3.3 порівняно з Gli1B7.7, виявлене при аналізі популяції F₂.

Для більш детального аналізу зв'язку мейотичного драйву з алейними станами локусів Gli1B і Glu1B розщеплення за цими локусами роздивлювались на різних генетичних фонах. З загальної вибірки рослин F₂ відбирали рослини з генотипами: 1) Gli1B7.7 Glu1B-с.е; 2) Gli1B3.3 Glu1B-с.е; 3) Glu1B-с.с Gli1B3.7; 4) Glu1B-е.е Gli1B3.7; 5) Gli1B3.7 Glu1B-с.е і аналізували розщеплення за генотипами зерен з цих рослин за відповідними локусами хромосоми 1В. Розщеплення за локусом Glu1B у рослин-гомозигот Gli1B3.3 і Gli1B7.7 значно не відрізнялось від очікуваного. Відхилення опостерігається тільки на фоні гетерозиготи за Gli1B за рахунок різниці в чисельності яйцеклітин (Табл. 1.). Можна було б сподіватись, що мейотичний драйв в яйцеклітинах в даному випадку відбувається за локусом Gli1B через присутність житньої транслокації. Однак виявилось, що відхилення від нормального розщеплення за локусом Gli1B опостерігається тільки у рослин з Glu1B-е.е (чисельності генотипів Gli1B7.7.7, Gli1B7.7.3, Gli1B3.3.7 і Gli1B3.3 дорівнюють 191, 132, 178 і 148, відповідно, χ^2 -13,2, $P < 0,01$), на фоні Glu1B-с.с достовірних відмінностей не знайдено (чисельності генотипів - 167, 138, 164 і 156, χ^2 -3,3). Аналіз гамет показує, що на фоні Glu1B-е.е пилкові зерна з Gli1B7 мають перевагу порівняно з пилковими зернами з Gli1B3 (Табл. 2). Це свідчить про існування

гаметичного відбору або мейотичного дрейву, напрямок якого сприяє пилковим зернам з Gli1B7 і залежить від генотипу за локусом, розміщеним в іншому плечі.

Крім однолокусних розщеплень аналізували розщеплення за комбінаціями алельних варіантів пар локусів (Gli1B і Gli1D, Gli1B і Gli1D) у рослин F₂. На основі розщеплень за цими парами локусів у рослин F₂ були підраховані чисельності гамет з різними комбінаціями

Таблиця 1

Чисельність гамет з алельними станами локуса Glu1B у зерен з рослин F₂ від схрещення В-16 х Донська напівкарликова з різними генотипами за локусом Gli1B

Генотип рослини за локусом Gli1B	Чисельність		χ ²	Чисельність		χ ²
	пилкових зерен з 1:1 Glu1B-c	Glu1B-e		яйцеклітин з 1:1 Glu1B-c	Glu1B-e	
7.7	330	336	0,05	326	340	0,29
3.3	270	271	0,002	271	270	0,002
3.7	1011	939	2,66	1058	892	14,13*

* - P < 0,001

Таблиця 2

Чисельність гамет з алельними станами локуса Glu1B у зерен з рослин F₂ від схрещення В-16 х Донська напівкарликова з різними генотипами за локусом Glu1B

Генотип рослини за локусом Gli1B	Чисельність		χ ²	Чисельність		χ ²
	пилкових зерен з 1:1 Gli1B7	Gli1B3		яйцеклітин з 1:1 Gli1B7	Gli1B3	
c.c	331	294	2,19	305	320	0,36
e.e	367	280	11,69*	323	324	0,002

* - P < 0,001

ми алелів даних локусів, що утворили ці рослини (при підрахунку не враховували клоа, гетерозиготний за двома локусами). Між чисельностями гамет з генотипами Gli1D3 Gli1B7 і Gli1D3 Gli1B3 різниця високодостовірна (272 і 192, відповідно, χ²-15,7, P < 0,001) тоді як різниця між чисельностями гамет з генотипами Gli1D4 Gli1B7

і Gl11D4 Gl11B3 недостовірні (239 і 199, відповідно, $\chi^2-3,7$). Аналогічно, високодостовірні різниця між чисельностями гамет з Glu1D-d Gl11B7 і Glu1D-d Gl11B3 (196 і 136, відповідно, $\chi^2-10,84$, $P < 0,001$) і невизначна між чисельностями типів гамет за Gl11B, що несуть алель Glu1D-а (171 і 145, відповідно, $\chi^2-2,14$).

Для того, щоб перевірити припущення про можливий вплив фрагментів хромосом, маркерами яких є алелі локусів Gl11D і Glu1D, на поведінку хромосом 1B в мейозі, проаналізували розщеплення за локусом Glu1B у зерен з рослин F_2 з генотипами Gl11D4.4 Glu1B-с.е; Gl11D3.3 Glu1B-с.е; Glu1D-а.а Glu1B-с.е; Glu1D-d.d Glu1B-с.е. Чисельність гамет, що утворили ці зерна, показує, що мейотичний драйв у жіночих гамет, направлений на елімінацію алеля Glu1B-е, відбувається тільки у рослин з генотипом Gl11D3.3 і не спостерігається у рослин, що несуть хромосоми 1D з алелем Gl11D4 (Табл. 3). Також у рослин з генотипом Glu1D-а.а спостерігається зміщення розщеплення за Glu1B у яйцеклітин, а у рослин з генотипом Glu1D-d.d розщеплення не відрізняється від очікуваного. При порівнянні з даними для гамет, які утворили рослини F_2 , видно, що алелі локусу Glu1D у випадку утворення яйцеклітин у рослин F_2 альтернативним способом пов'язані з процесом мейотичного драйву за локусом Glu1B.

Пшениця характеризується моноспоричним типом макроспорогенезу - тільки халазальна макроспора розвивається в мегагаметофіт. Тому у пшениці мейотичний драйв, який приводить до відхилень у співвідношенні чисельностей гамет з різними алелями, може бути обумовле-

Таблиця 3

Чисельність гамет з алельними станами локуса Glu1B у зерен з рослин F_2 від схрещення Б-16 х Донська напівкарликів, гомозиготних за локусом Glu1D або Gl11D

Генотип рослини	Чисельність підкових зерен з 1:1 Glu1B-с Glu1B-е		χ^2	Чисельність яйцеклітин з 1:1 Glu1B-с Glu1B-е		χ^2
Gl11D4.4	183	173	0,28	190	166	1,82
Gl11D3.3	233	217	0,57	251	199	6,0 *
Glu1D-а.а	177	176	0,002	199	154	5,74 *
Glu1D-d.d	167	169	0,01	160	176	0,76

* - $0,01 < P < 0,025$

ний більшою частотою попадання певних алелів у функціональну калазальну макроспору. Можна припустити, що цей процес залежить від просторової орієнтації гомологічних хромосом у біваленті в метафазі I мейозу відносно калазального полюсу. В нашому випадку через певні причини в метафазі I хромосома, що несе життєво транслокацію, з більшою ймовірністю розміщується на екваторіальній пластинці веретена ділення зі сторони мікропіле. Вищенаведена різниця в чисельності різних типів гамет показує, що процес переважного попадання алеля Gli1B3 в нефункціональну макроспору залежить від поведінки в першому поділі гомологів хромосоми 1D з різними алелями локусів запасних білків. Можливо ці алелі є маркерами ділянок хромосом, морфологічні особливості яких обумовлюють їх вплив на хід мейозу.

Отже, для даної гібридної комбінації напрямок передгайотичних процесів за одним з локусів хромосоми 1B істотно залежить від генотипу за іншими локусами запасних білків.

2. Вивчення передгайотичних процесів у реципрокних гібридів B-16 x Юнат. У цих гібридів за локусами Gli1B і Glu1B спостерігається значне відхилення розщеплення від очікуваного для зерен F₂ (P < 0,001). Аналіз гамет, що утворили зерна F₂, показав, що зміщення чисельності класів відбувається за рахунок переваги пилкових зерен з Gli1B1 і Glu1B-с (Табл. 4).

За розщепленням яйцеклітин реципрокні скрещення відрізняються (Табл. 4.). Для прямого скрещення B-16 x Юнат чисельність яйцеклітин з алелями Gli1B1 і Glu1B-с достовірно перевищує чисельність яйцеклітин з Gli1B3 і Glu1B-е, хоч величина цього зміщення менш значна порівняно з пилковими зернами. При зворотньому скрещенні переважають яйцеклітини з Gli1B3 або Glu1B-е, однак різниця між ними статистично недостовірна при даному об'ємі вибірки (Табл. 4). Отже, мейотичний драйв у яйцеклітин за локусами Gli1B і Glu1B, який сприяє алелям Gli1B7 і Glu1B-с, відбувається на рослинах F₁ з цитоплазмою лінії B-16, а на рослинах F₁ з цитоплазмою сорту Юнат відсутній, що свідчить про наявність материнського ефекту.

Частота рекомбінації між локусами Gli1B і Glu1B, підрахована на основі чисельностей гамет з різними комбінаціями алелів цих локусів за формулою для потомств зворотних скрещень, дорівнювала 13 %, як і для комбінації B-16 x Донська напівкарликова.

Для зерен F₂ від скрещення B-16 x Юнат спостерігалось також відхилення від очікуваного розщеплення за локусом Glu1B (P <

Таблиця 4

Чисельність гамет з різними алейними станами локусів Gli1B, Gli1D, Glu1B і Glu1D, які утворили зерна F₂ від рециспрокних схрещень B-16 x Юнат і Юнат x B-16

Комбінація	Чисельність					
	Яйцеклітин			Пилкових зерен		
	Gli1B1	Gli1B3	χ^2	Gli1B1	Gli1B3	χ^2
B-16 x Юнат	401	344	4,36*	468	277	48,98**
Юнат x B-16	463	507	2	601	369	55,49**
	Gli1D1	Gli1D4	χ^2	Gli1D1	Gli1D4	χ^2
B-16 x Юнат	343	397	3,94*	377	363	0,27
Юнат x B-16	486	475	0,13	469	498	0,87
	Glu1B-c	Glu1B-e	χ^2	Glu1B-c	Glu1B-e	χ^2
B-16 x Юнат	626	536	6,97**	699	463	47,93**
Юнат x B-16	463	524	3,77	574	413	26,26**
	Glu1D-a	Glu1D-d	χ^2	Glu1D-a	Glu1D-d	χ^2
B-16 x Юнат	616	546	4,22*	538	624	6,36*
Юнат x B-16	489	491	0,004	478	502	0,59

* - $P < 0,05$

** - $P < 0,01$

0,001). Серед яйцеклітин переважають гамети з алелем Glu1D-a, а серед пилкових зерен переважають гамети з Glu1D-d (Табл. 4). У цієї комбінації схрещення виявлено драйв у яйцеклітин за локусом Gli1D з перевагою алеля Gli1D4. Подібних відхилень не виявлено для зворотнього схрещення.

Було проаналізовано розщеплення по гаметам за паров локусів Gli1B і Gli1D для обох гібридів. Між чисельностями гамет з генотипами Gli1D1 Gli1B1 і Gli1D1 Gli1B3 різниця достовірна (197 і 146, $\chi^2 = 7,6$, $0,001 < P < 0,01$), тоді як чисельності гамет з генотипами

Gli1D4 Gli1B1 і Gli1D4 Gli1B3 достовірно не відрізняються (211 і 196). Фактично спостерігається дефіцит гамет з комбінаціями алелів Gli1B3 і Gli1D1. Можна припустити, що існує механізм переважної одночасної орієнтації хромосоми 1B з алелем Gli1B3 і хромосоми 1D з алелем Gli1D1 зі сторони мікропіле. Подібних процесів не спостерігалось у яйцеклітин у зворотнього схрещення.

Отже, у даних рослин F₁ спостерігається зміщення чисельності пилкових зерен з різними алельними варіантами локусів Gli1B і Glu1B, які взяли участь в утворенні зернівок F₂. Причиною цього може бути або гаметичний відбір, який проявляється в більшій конкурентоздатності пилкових зерен з Gli1B1 і Glu1B-с порівняно з Gli1B3 і Glu1B-e, або мейотичний драйв, що приводить до утворення меншої кількості гамет з Gli1B3 Glu1B-e. У рослин F₁ від схрещення B-16 x Юнат у яйцеклітин спостерігається мейотичний драйв за цими локусами, що має такий же напрям, але менш інтенсивний. Як показано вище, при утворенні зерен з рослин F₂, гетерозиготних за локусом Glu1B, від схрещення B-16 x Донська напівкарликова спостерігається мейотичний драйв, який також сприяє утворенню яйцеклітин з Glu1B-с. Можна припустити, що для одержання мейотичного драйву за яйцеклітинами з елімінацією алеля Glu1B-e (і, отже Gli1B3) лінія B-16 повинна виступати як материнський компонент. Відмінності між реципрокними комбінаціями схрещення (материнський ефект) можуть дозволити підбирати материнські та батьківські компоненти для створення гібридів, які дають при самоопиленні підвищену частоту бажаних генотипів по маркерним локусам.

ЗВ'ЯЗОК АЛЕЛЬНИХ СТАНІВ ЛОКУСІВ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ З КІЛЬКІСНИМИ ОЗНАКАМИ

1. Зв'язок алельних станів локусів запасних білків з ознаками продуктивності рослин F₂ і F₃. Рослини F₂ від схрещення B-16 і Донська напівкарликова були вивчені за ознаками: вага рослини, продуктивне кущення, вага і кількість зерен з рослини. Рослини F₃, одержані посівом 25 зерен з кожної рослини F₂, оцінили за ознаками: висота рослини, урожай з рядка, вміст білку в зерні і величина седиментації. Для частини рослин F₂ з низькою кількістю зерен компонентний склад НММ субдиниць глютенінів не було проаналізовано, тому середні значення ознак продуктивності рослин F₂ при групуванні за алельними станами глютенінкодуєчих локусів вище, ніж при групуванні по алелям гліадинкодуєчих локусів. Для групи рослин з Gli1B3.7 середні величини продуктивного кущення, ваги рослини, ва-

ги зерна з рослин достовірно перевищують величини цих ознак у групі рослин з Gli1B7.7 (Табл. 5). Отже, можна говорити про гетерозис у гетерозигот за локусом Gli1B за деякими елементами продуктивності. Цей ефект у гетерозигот за локусом Gli1B був раніше виявлений І.О.Совіновим і О.Н.Хохловим при вивченні рослин F₂ від схрещення Обрій х В-16. Його причиною, очевидно, є наявність генів від різних видів. Рослини з Gli1D4.4 переважають рослини з Gli1D3.3 за

Таблиця 5

Різниця між середніми величинами ознак продуктивності у груп рослин F₂ від схрещення В-16 х Донська напівкарликова з різними алейними станами одного локуса

Ознака Класи, які порівнюються Різниця середніх величин

Кущення	Gli1B3.7 - Gli1B7.7	0,29 *
	Glu1B-c.e - Glu1B-c.c	0,29 *
Вага рослини, г	Gli1B3.7 - Gli1B7.7	1,04 *
	Gli1D4.4 - Gli1D3.3	1,11 *
Вага зерна з рослини, г	Gli1B3.7 - Gli1B7.7	0,42 *
	Gli1D4.4 - Gli1D3.3	0,58 *
Кількість зерен на рослині	Gli1D4.4 - Gli1D3.3	11,43 *
	Glu1D-a.d - Glu1D-a.a	-11,74 *
Висота рослини, см	Gli6A1.1 - Gli6A3.3	-2,00 *
Урожай з рядка, г	Gli6A1.1 - Gli6A3.3	-20,71 **
	Glu1B-e.e - Glu1B-c.c	12,37 *

* - 0,01 < P < 0,05;

** - P < 0,001

елементами продуктивності. Лінії, що несуть блок Gli6A3, мають достовірно більшу висоту рослини, урожай з рядка і менший вміст білку в зерні порівняно з лініями з блоком Gli6A1 (Табл. 5, 7).

За середніми значеннями ознаки кількість зерен на рослині для класів, сформованих на основі алейних станів двох локусів запасних білків, були розраховані адитивні, доміантні і епістатичні (дволокусні) ефекти генів запасних білків, які відображають внесок алейнів у дану ознаку (Табл. 6.). Попередні розрахунки (за критерієм χ^2) показали, що адитивно-домінантна модель неадекватна, за

Таблиця 6

Середні (m), адитивні (d_a, d_b), домінантні (h_a, h_b) і епістатичні ($i_{ab}, j_{ab}, j_{ba}, l_{ab}$) ефекти генів для рослин F_2 від схрещення В18 x Донська напівкарликова, оснований на середніх значеннях кількості зерен на рослині у класів, утворених за генотипами двох локусів

Пари локусів			Ефекти генів							
a	b	m	d_a	d_b	h_a	h_b	i_{ab}	j_{ab}	j_{ba}	l_{ab}
G11A	G11B	133.85**	0,46	1,86	2,96	8,50**	-5,26**	1,26	-5,31	2,13
G11A	G11D	139.09**	-1,04	-0,10	3,22	0,80	-3,17	2,88	12,13**	1,13
G11A	G16A	135.06**	-0,95	-1,19	4,21	7,59**	1,61	2,23	4,09	-2,51
G11A	G1u1A	147.74**	-0,83	3,08	2,05	3,71	0,46	-3,27	2,50	-5,06
G11A	G1u1B	144.70**	0,06	-0,16	3,09	11,11**	-9,83**	-7,06**	2,65	-6,26
G11A	G1u1D	150.92**	-3,27	1,54	5,70	-2,04	-4,62*	-0,63	9,49**	-11,11*
G11B	G11D	132.96**	2,49	2,11	14,72**	6,78*	2,53	-5,68	8,73**	-12,68**
G11B	G16A	131.81**	-5,36**	4,20*	11,54**	8,76**	-5,66**	9,96**	-5,98*	-6,48
G11B	G1u1A	144.99**	-0,57	9,41**	5,69	0,51	0,14	-1,45	-9,15**	5,13
G11B	G1u1B	147.35**	-9,59**	11,66**	-2,23	5,37	-0,90	1,31	-10,49**	5,46
G11B	G1u1D	147.73**	0,43	8,59**	6,75*	-7,79**	1,45	6,68*	-2,09	4,66
G11D	G16A	134.93**	2,19	0,35	5,51	10,69**	-2,08	6,71*	-0,79	-9,24

Таблиця 6 (продовження)

Gli1D	Glu1A	146.40**	6,29**	6,12**	4,99	3,97	-1,95	7,00*	-3,75	-5,83
Gli1D	Glu1B	141.47**	10,40**	3,33	10,18**	18,31**	-7,50**	4,23	-0,16*	-19,20**
Gli1D	Glu1D	153.73**	7,50**	8,64**	-1,11	-8,43**	8,27**	2,8	-7,42*	3,83
Gli1A	Glu1A	145.06**	1,53	1,12	7,83**	1,97	-3,99*	-2,45	6,58*	-1,83
Gli1A	Glu1B	142.38**	6,04**	0,77	6,23*	7,84**	-8,43**	-9,61**	3,6	1,78
Gli1A	Glu1D	148.17**	2,73	5,60**	9,39**	-4,24	-12,34**	-4,72	-2,81	-4,81
Glu1A	Glu1B	144.79**	-2,94	9,08**	3,78	7,27**	-6,69**	12,73**	-11,30**	0,44
Glu1A	Glu1D	154.12**	9,00**	-2,51	-0,09	-11,35**	-0,06	-9,10**	13,01**	8,64
Glu1B	Glu1D	153.60**	-1,11	4,28*	1,08	-13,06**	10,49**	8,36**	-0,87	12,00**

* - $P < 0,01$ ** - $P < 0,001$

Примітка. Приймали (в деяких випадках умовно), що величину ознаки збільшують алелі (+) Gli1A4, Gli1B7, Gli1D4, Gli1A3, Glu1A-c, Glu1B-c і Glu1D-a і зменшують - алелі (-) Gli1A9, Gli1B3, Gli1D3, Gli1A1 Glu1A-a, Glu1B-e і Glu1D-d.

винятком трьох випадків. Оскільки при розрахунку за повною моделлю, яка включає всі дволокусні взаємодії, було 9 незведених (параметрів) і 9 рівнянь (9 класів), адекватність моделі з взаємодією перевіряли по χ^2 , виключаючи з моделі один параметр епістатичної взаємодії. Модель з взаємодією генів запасних білків виявилася адекватною для ознаки кількість зерен на рослині. Модель виявляє деякі закономірності - значність позитивних домінуючих ефектів локусів Gli1B, Gli1A і Glu1B і негативного домінуючого ефекту Glu1D, взаємодії з участю алеля Gli1A3 в гомозиготному стані в більшості випадків значні і негативні. Успадкування інших ознак продуктивності не можна було описати за допомогою моделі з дволокусною взаємодією.

2. Гетерозис за ознакою кількість зерен на рослині у рослин F₂, що несуть певні комбінації алелів запасних білків. Базауючись на середніх значеннях кількості зерен на рослині у груп рослин і даних про величини різних ефектів генів (Табл. 8.) ми склали генетичні формули гібридних рослин F₂, які мають максимальну величину ознаки кількість зернівок на рослині - Gli1A9.4 або 9.9 Gli1B3.7 Gli1D 4.4 Gli1A1.1 або 1.3 Glu1A-a.o або o.o Glu1B-o.e Glu1D-a.a. Виявилось, що відібрані зі всієї вибірки рослини F₂ (7 штук) з даними формулами мали середнє значення ознаки (217,4±6,7 зернівок), яке перевищує значення у кращої за цією ознакою батьківської форми - В-16 (121,8±5,7) на 95,6 зерен (P<0,001), що складає гетерозис на рівні 178 %. При цьому, середня кількість зернівок на рослинах F₁ була 159,1±4,5. Отже, використовуючи запасні білки як молекулярно-генетичні маркери можна прогнозувати ефект гетерозису у гібридів озимої пшениці, а також підбирати кращі комбінації алелів за даною ознакою у гібридів.

3. Зв'язок алельних станів локусів запасних білків з якістю зерна. Практично всі алельні стани глютенін- і гліадинкодуючих локусів, крім Gli1D, які характеризують ліній В-16, мають негативний внесок у показник седиментації порівняно з алелями Донської напівкарликової (Табл. 7). За вмістом білку в зерні рослини з Gli1B3 або Gli1A1, що відповідають лінії В16, значно перевищують генотипи з алелями Донської напівкарликової. Уже відомо, що присутність блоку Gli1B3 забезпечує підвищений вміст білку в зернівках (Сосінов, 1985). Така ж властивість блоку Gli1A1 виявлена нами вперше.

Успадкування ознаки вміст білку в зерні не можна було описати за допомогою моделі з дволокусною взаємодією на відміну від показ-

Таблиця 7

Різниця між середніми значеннями ознак якості зерна у груп рослин F₂ від скрещення В-16 х Доноська напівкарликова з різними алейними станами одного локуса

Ознака Класи, які порівнюються Різниця середніх

% білку в зерні	Gli1B3.3 - Gli1B7.7	0,20 *
	Gli6A1.1 - Gli6A3.3	0,25 **
Седиментація, мл	Gli1B3.3 - Gli1B7.7	-13,91 **
	Gli1D4.4 - Gli1D3.3	3,00 **
	Gli6A1.1 - Gli6A3.3	-3,24 **
	Glu1A-c.c - Glu1A-a.a	-4,90 **
	Glu1B-e.e - Glu1B-c.c	-12,52 **
	Glu1D-a.a - Glu1D-d.d	-4,98 **

* - 0,01 < P < 0,05;

** - P < 0,01;

ника седиментації.

Для показника седиментації розрахунок генних ефектів проводили за моделлю (Табл. 8), яка включає адитивні ефекти і ефекти взаємодії адитивний х адитивний (скільки величину седиментації визначали для зерна з рядка - потомства окремої рослини F₂, аналізували середні значення цього показника тільки для гомозиготних класів). При складанні рівнянь приймали, що алелі сорту Доноська напівкарликова мають позитивний ефект (+1), а алелі В-16 - негативний (-1).

Виявилось, що в даній популяції найбільший вклад у визначення показника седиментації вносять адитивні ефекти генів локусів Gli1B і Glu1B, за ними йдуть адитивні ефекти Gli1D, Glu1D, Glu1A і, в меншій мірі, ефекти генів локусів Gli1A і Gli6A. Ефекти дволокусної взаємодії були практично незначні для величини показника седиментації, за винятком двох випадків з участю локуса Glu1A.

При розгляді середніх значень класів, згрупованих за парю локусів Gli1B і Glu1B, виявилось, що алелі Glu1B-e і Glu1B-c незначно відрізняються за впливом на величину седиментації, а різниця, одержана при однолокусних порівняннях (Табл. 7) є наслідком сильних відмінностей за впливом на величину седиментації алейних станів ечепленого в Glu1B локуса Gli1B.

Таблиця 8

Середні (m), адитивні (d_a, d_b), і епістатичні (i_{ab}) ефекти генів запасних білків для родин F_3 від схрещення B16 x Донська напівкарликова, оснований на середніх значеннях величини седиментації класів, утворених за генотипами двох локусів

Пари локусів			Ефекти генів, мл		
a	b	m	d_a	d_b	i_{ab}
Gli1A	Gli1B	51,50***	0,43	7,59***	0,08
Gli1A	Gli1D	53,38***	1,67**	-1,91**	-0,08
Gli1A	Gli6A	52,93***	1,35*	1,02	-0,68
Gli1A	Glu1A	52,24***	0,92	2,84***	-0,48
Gli1A	Glu1B	51,51***	0,26	8,15***	1,01
Gli1A	Glu1D	52,08***	0,03	1,88**	0,99
Gli1B	Gli1D	51,44***	7,28***	-1,60**	-0,48
Gli1B	Gli6A	51,14***	7,86***	1,69***	-0,02
Gli1B	Glu1A	50,42***	8,42***	2,05***	0,16
Gli1B	Glu1B	50,57***	5,71***	1,71**	0,57
Gli1B	Glu1D	51,15***	7,07***	1,98***	-0,83
Gli1D	Gli6A	52,89***	-1,27*	1,62**	-0,11
Gli1D	Glu1A	52,59***	-2,13***	3,56***	-1,56*
Gli1D	Glu1B	51,50***	-1,91***	6,32***	-0,61
Gli1D	Glu1D	52,45***	-2,49***	3,08***	-0,17
Gli6A	Glu1A	51,24***	0,94	2,20***	0,99
Gli6A	Glu1B	51,67***	2,18***	6,34***	-0,93
Gli6A	Glu1D	52,80***	0,74	3,00***	-0,09
Glu1A	Glu1B	51,44***	2,28***	5,57***	0,23
Glu1A	Glu1D	51,58***	2,42***	2,57***	-1,18*
Glu1B	Glu1D	51,91***	6,63***	2,37***	-0,91

* - $P < 0,05$

** - $P < 0,01$

*** - $P < 0,001$

Середня сума адитивних ефектів генів запасних білків складає 14,06 мл. Співвідношення суми адитивних ефектів до різниці між батьківськими формами дорівнює $14,06/17,29 = 0,81$. Отже, відмін-

ності за алейними станами локусів запасних білків визначають 80% відмінностей між вихідними сортами. Однак, якщо врахувати дволокусні взаємодії (їх сума дорівнює 4,2 мл), то відсоток відмінностей - 57%. Отже, дані алейні варіанти локусів запасних білків визначають більше половини різниці між батьківськими формами за показником седиментації, решта відмінностей визначається іншими генетичними факторами.

Якщо для ознаки показник седиментації відомо, що вона в певній мірі визначається плейотропними ефектами генів запасних білків, то пов'язаність алейних станів генів запасних білків з кількістю зерен на рослині можна пояснити їх зчепленням з генами, які контролюють цю ознаку.

В И С Н О В К И

1. Вперше складено каталог алейних варіантів локусів Gli1A, Gli1B і Gli1D для SDS-електрофореграм, який дозволяє одночасно ідентифікувати на SDS-електрофореграмах алейні варіанти HMW субодиниць глітенінів та гліадинів хромосом 1-ї гомеологічної групи.

2. Показано, що у лінії B-16 транслокація 1B/1R, маркером якої є алей Gli1B3, знаходиться на відстані близько 13,5% рекомбінації від локуса Gli1B, тобто вона відбулась по центромері або біля неї.

3. Встановлено, що у гібридного потомства даних сортів озимої пшениці розщеплення за алейними варіантами певних локусів запасних білків не відповідає очікуваному менделівському.

4. У гібридних рослин озимої пшениці виявлено елімінацію гамет, які несуть хромосому 1B з житньою транслокацією, що дозволяє припустити значну роль невідповідних передгамотичних процесів у формуванні генетичної структури потомства.

5. Виявлено вплив материнського генотипу на напрямок передгамотичних процесів за локусами запасних білків при утворенні жіночих гамет у гібридів пшениці.

6. Показано, що розщеплення за алейними локусами запасних білків хромосоми 1B з транслокацією 1B/1R при утворенні жіночих гамет залежить від алейних варіантів локусів запасних білків інших хромосом (зокрема хромосоми 1B).

7. Показано, що алей Gli1A3 від Донової напівкарликової асоційований з алейми, які відповідають за більшу висоту рослини, урожай з рядка і менший вміст білку в зерні, порівняно з алейми, маркерами яких є Gli1A1 від лінії B-16. Алейні варіанти Gli1B-6

від лінії B-18 і Glu1B-c від сорту Донська напівкарликова незначно відрізняються за впливом на величину седиментації.

8. Встановлено, що ознаку кількість зерен на рослині F_2 можна описати за допомогою моделі з взаємодією двох локусів запасних білків. На основі цього локуси запасних білків можна використовувати як маркери для підбору батьківських форм для одержання гетерозисних за цією ознакою гібридів.

9. У визначенні ознаки показник седиментації основну роль відіграють адитивні ефекти генів запасних білків і меншу - взаємодії цих генів. Дані алейні стани локусів запасних білків визначають більше половини відмінностей (57 %) між батьківськими формами за показником седиментації.

Список робіт, опублікованих за темою дисертації

1. Козуб Н.А., Антонюк М.З. Изучение расщепления по локусам запасных белков у гибридных растений F_2 // Тезисы докладов науч.-практич. конф. молодых ученых и специалистов "Вклад молодых ученых в интенсификацию сельского хозяйства УССР" 14 марта 1991 г. - Ч. II. - С. 117.

2. Созинов И.А., Козуб Н.А., Хохлов А.Н. Сопряженность ржаной транслокации с мейотическим драйвом по аллелям локусов запасных белков хромосомы 1В// Тезисы докладов международного симпозиума "Управление генетической изменчивостью с.х. растений". - Ялта, 1992. - С. 90-91.

3. Созинов И.А., Козуб Н.А., Хохлов А.Н. Связь признака количество зерен на растении F_2 с аллельным состоянием локусов запасных белков // Тезисы докладов международного симпозиума "Управление генетической изменчивостью с.х. растений". - Ялта, 1992. - С. 91-92.

4. Козуб Н.А. Созинов И.А. Сопряженность аллельных состояний глиадин- и глютелинкодирующих локусов с преаиготическими процессами у озимой пшеницы// Цитология и генетика. - 1993. - 27. - N 5 (в печати).

5. Созинов И.А., Козуб Н.А., Хохлов А.Н., Терновская Т.К. Сопряженность количественных признаков с аллельными состояниями локусов запасных белков озимой пшеницы// Цитология и генетика. - 1993. - 27. - N 5 (в печати).

Підписано до друку 19.07.93. Формат 60x84 1/16. Офсетний друк.
Папір офсет. Ум.друк.арк. 1,16. Тираж 120 прим. Зам. 1453в.

ВПН корпорації, УкрНТІ, 252171, Київ 171, вул. Горького, 180.

AB 27.889

AB 27.889