

КЛАССИФИКАЦИЯ САМОПЫЛЕННЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЙ ПОДВИЖНОСТИ КОМПОНЕНТОВ ЗЕИНА

Говор Е.М., Шиманский Л.П., кандидат с.-х. наук

Республиканское научное дочернее унитарное предприятие «Полесский институт растениеводства»

Аннотация. *Приведены результаты исследований 38 линий кукурузы по запасным белкам семян с использованием электрофоретического разделения компонентов зеина. На основе данных об электрофоретической подвижности компонентов зеина инбредных линий обнаружено наличие 2-3 компонентов зеина, которые совместно встречаются только у представителей определенной гетерозисной группы. Установлено что компоненты 23 и 33 встречаются у линий группы Кремнистая Оттава, комбинация 28-42 характерна для линий гетерозисной группы Лакон, 32-45 – для Лизаргарат, 25-34-45 – Со 72-75, 26-31-41 – Со 125, 29-34 – CG 12, 29-33-37 – Рейд, 35-40 – Ланкастер, 36-41-69 – Айодент.*

Ключевые слова: кукуруза, электрофоретические спектры зеина, маркерные компоненты

The results of studies of 38 lines of maize on spare seed proteins with the use of electrophoretic separation of zein components are presented. Based on the data on the electrophoretic mobility of zein components of inbred lines, 2-3 zein components were found, which are found together only in representatives of a certain heterotic group. It was found that components 23 and 33 occur at the lines of the Ottawa Flint group, a combination of 28-42 is characteristic of the lines of the heterozygous Lacaune group, 32-45 for Lizargarate, 25-34-45-Co 72-75, 26-31-41-Co 125, 29-34 - CG 12, 29-33-37 - Reid, 35-40 - Lancaster, 36-41-69 - Iodent.

Key words: maize, zein electrophoretic spectra, marker components

Успехи гетерозисной селекции кукурузы в значительной мере зависят от генетического разнообразия исходного материала, что обуславливает физиологический потенциал кукурузы и способствует созданию высокоурожайных, адаптированных к определенным природным зонам гибридов. Высокогетерозисные гибриды кукурузы, как правило, получают от скрещивания генетически разнокачественных инбредных линий. Подбор линий для гибридных комбинаций традиционно осуществляют на основе характеристики фенотипических признаков. В последние десятилетия для подбора родительских форм, нацеленного на увеличение полезной для отбора изменчивости по количественным признакам у потомства, используют различные оценки генетической дивергенции родителей, т.е.

несходства их аллельного состава. Генетическое разнообразие и неродственность образцов обусловлены степенью мутационных и рекомбинационных преобразований генома. Поэтому вполне логичными стали попытки их определения по полиморфизму продукта экспрессии гена – белка. Белковые молекулы не поддаются паратипическим модификациям, поэтому они должны в большей степени отвечать требованиям оценки генетической дивергенции исходных форм. В качестве маркеров для установления генетического разнообразия, начиная с 1960-х годов в связи с развитием методов электрофореза, используются варианты запасных белков для измерения и характеристики генетических вариаций во многих культурах, включая кукурузу. Большой интерес представляет разработка высокоразрешающей методики электрофореза зеина, который имеет целый ряд преимуществ перед другими белками. Основные из них: удобная для исследования его локализация, большая концентрация зеина в зерновке (до 60% белка эндосперма), легкость и простота его извлечения, значительная гетерогенность зеина (до 22 компонентов, а значит, до 22 генов в отличие от 2-3 генов отдельного фермента), возможность сохранения жизнеспособности семени после анализа.

Внедрение в селекционную практику метода генетического маркирования позволит сократить этот процесс до 2-3 лет и значительно снизить затраты на производство гибридов [1, 3, 4, 5].

Нами была исследована возможность получения информации о степени генетических различий между основными гетерозисными группами кукурузы по электрофоретическим спектрам зеина.

Методика проведения исследований. Изучение генетической дивергенции между основными гетерозисными группами кукурузы по электрофоретическим спектрам зеина проводилось в 2015-2017 годах в лаборатории электрофореза РНДУП «Полесский институт растениеводства». Изучаемый материал представлен 38 линиями кукурузы из 9 гетерозисных групп: Кремнистая Оттава (СМ 7), Лакон (F 2), Лизаргарат (Ер 1), Зубовидная Канады (Со 72-75), Зубовидная Канады (Со 125), Зубовидная Канады (СГ 12), Ланкастер, Рейд и Айодент. Выделение и электрофорез зеина в 10% полиакриламидном геле проводили по «Методике идентификации семян кукурузы с использованием электрофореза зеина» (ВИР, 2002, С-Пб.). Гелевая пластина содержала 10% акриламида и 8 М мочевины. В раствор для экстракции зеина входила 6 М мочевина и 0,01 М дитиотрейтол. Электрофорез проводился без охлаждения в течение 5 ч при напряжении 500-580 В. Электрофоретический спектр зеина содержит от 12 основных компонентов. При регистрации их записывали в величинах электрофоретической подвижности (rf). Последнюю вычисляли по «внутреннему стандарту» rf-60. Для оценки интенсивности компонентов использовали трехбалльную шкалу.

Результаты и их обсуждение. Была исследована возможность получения информации о степени генетических различий линий кукурузы, относящихся к 9 группам зародышевой плазмы, на основании анализа электрофоретических спектров запасных белков семян кукурузы.

Каждая из 38 линий анализируемых линий имела характерный профиль электрофоретического спектра. По данным Комаровой Г.К. белковый спектр характеризуется достаточно широким диапазоном варьирования: от 9 до 25 молекулярных форм, составляющих зеиновый комплекс эндосперма генотипов кукурузы [2].

Электрофоретический спектр зеина, изученных инбредных линий в вертикальных пластинах содержал 16 до 25 основных компонентов. При регистрации их записывали в величинах электрофоретической подвижности (rf). Позиции основных компонентов зеина у всей совокупности изученных самоопыленных линий находятся в пределах rf 20-89. Линии из альтернативных групп зародышевой плазмы обладали специфическим распределением зеиновых маркеров в миграционной зоне электрофоретического спектра. Инбредные линии из разных гетерозисных групп достаточно сильно отличаются друг от друга по компонентному составу и напротив линии из одной группы имеют схожие спектры. На основе данных об электрофоретической подвижности компонентов зеина инбредных линий составлены белковые формулы, где цифровое обозначение соответствует величине электрофоретической подвижности белковых молекул зеина, интенсивные компоненты отмечены чертой под цифрами, обозначающие их позиции, слабые – чертой над цифрами. Такая система записи отражает генотипическую изменчивость генома кукурузы и позволяет идентифицировать зародышевую плазму.

Таблица 1 – Характеристика инбредных линий по белковым формулам зеина

К	Шифр линии	Белковая формула		Шифр линии	Белковая формула
СМ 7	БЛ 40	23 26 28 33 35 37 <u>38</u> 43 44 48 <u>51</u> 55 <u>57</u> 60 <u>64</u> 65 72 80 81 82 83	CG 12	ДК 261	20 22 26 28 <u>31</u> 35 38 41 44 <u>45</u> 53 55 60 62 75 81 83 89
	БЛ 77	23 26 28 33 35 37 <u>38</u> 43 44 48 55 <u>57</u> 60 <u>64</u> 65 <u>76</u> 80 81 82 83		БЛ 42	22 26 28 29 34 37 41 43 44 45 46 49 52 55 60 64 69 71 89
	БЛ 39	23 26 28 33 35 37 <u>38</u> 43 44 48 51 55 <u>57</u> 60 <u>64</u> 65 72 76 80 81 82 83		Б 1/96	22 28 29 34 <u>37</u> 41 <u>43</u> 44 46 49 52 <u>55</u> 60 64 69 71 75 78 86 89
F 2	БЛ 33	22 24 28 36 37 38 42 44 48 51 53 57 60 64 69 75 77 82 86	CG 12	МКР 36	22 28 29 34 <u>37</u> 41 <u>43</u> 44 46 49 52 <u>55</u> 60 69 71 75 78 86 89
	БЛ 565/92	28 32 35 37 <u>38</u> 42 44 47 48 51 52 55 <u>57</u> 60 <u>69</u> 77 79 80 82 84 86 89		326/96	22 28 29 34 <u>37</u> 41 <u>43</u> 44 46 49 52 <u>55</u> 60 64 67 71 75 78 89
	Л 142	28 32 35 37 <u>38</u> 42 44 47 48 51 <u>57</u> 60 <u>69</u> 77 82 86 89			
Ер 1	БЛ 57	22 26 32 37 38 39 42 44 45 48 52 55 <u>57</u> 60 64 73 74 76 82 85 86	Рейд	БКР 901	20 27 29 <u>33</u> 37 39 40 44 <u>45</u> 48 52 <u>56</u> 60 69 <u>75</u> 78 79 81 84 85 88
	БЛ 64	22 26 32 36 <u>40</u> 43 44 45 47 48 53 54 55 <u>58</u> 60 64 69 73 74 79 81 85 86		БКР 903	21 27 29 <u>33</u> 37 39 40 44 <u>45</u> 48 52 56 60 64 69 <u>75</u> 77 79 81 85
	Б 39/96	22 26 32 37 <u>38</u> 39 42 44 45 48 52 55 <u>57</u> 60 64 76 82 85 86		Кос 30/07	27 29 <u>33</u> 37 40 44 <u>45</u> 48 52 60 64 69 <u>75</u> 79 81 85
			Ланк	761/111	26 28 30 <u>31</u> 35 38 40 <u>44</u> 48 53 <u>55</u> 60 70 73 77 81 84 86 89

Co72-75	БЛ 82	20 21 25 27 31 34 44 <u>45</u> 46 53 <u>55</u> 60 64 71 <u>75</u> 83 89		БЛ 990	22 26 28 30 <u>31</u> <u>35</u> 40 44 48 53 <u>55</u> 60 70 73 77 81 84 86 89
	МКР 41	20 25 27 31 34 38 44 <u>45</u> 46 53 <u>55</u> 60 71 <u>75</u> 83 89		МСП 22/07	22 26 33 <u>35</u> 38 <u>40</u> 44 <u>47</u> 50 53 57 60 64 74 76 78 85 86 88
	БЛ 41	20 21 25 27 31 34 38 44 <u>45</u> 53 <u>55</u> 60 <u>75</u> 79 83 89		МСП 46/07	22 26 28 30 31 35 40 44 53 57 60 64 69 70 73 76 81 85 86 89
Co 125	БЛ 52	20 22 24 26 28 <u>31</u> 35 38 41 43 44 <u>45</u> 50 52 55 58 60 64 66 <u>75</u> 81 83 86 89	Айдент	БКР 710	23 <u>31</u> 34 36 <u>41</u> 44 <u>47</u> 51 54 <u>58</u> 60 69 71 <u>75</u> 78 84 89
	Со 124-1	22 25 26 <u>31</u> 34 38 41 43 44 50 55 60 64 <u>75</u> 81 86 89		БЛ 365	28 32 36 <u>41</u> 44 49 53 <u>54</u> 55 60 69 74 <u>75</u> 76 82 84 88
	К 410	20 25 26 27 <u>31</u> 35 41 43 44 <u>45</u> 50 55 60 66 <u>75</u> 81 83 86 89		БЛ 333	23 25 29 32 36 <u>41</u> 44 49 53 <u>54</u> 55 60 64 66 69 74 <u>75</u> 76 82 84 88
	БЛ 78	20 24 26 28 35 38 41 44 <u>45</u> 47 51 53 55 <u>60</u> 62 64 73 75 78 81 89		ДК 744	23 31 36 <u>41</u> 44 <u>47</u> 51 54 <u>58</u> 60 65 69 71 <u>75</u> 78 84 89
	ДК 129	20 24 26 28 31 41 44 <u>45</u> 47 51 53 55 <u>60</u> 62 64 73 75 78 81 89		МКР 61	25 28 31 32 36 38 <u>41</u> 44 47 53 <u>54</u> 55 60 69 72 74 <u>75</u> 80 84 86

В электрофоретических спектрах зеина были идентифицированы основные компоненты, по которым в дальнейшем проводился сравнительный анализ инбредных линий кукурузы. Частота встречаемости отдельных компонентов в спектрах зеина различна. Компоненты 44 и 60 встречаются в белковых спектрах у всех изученных линий, но интенсивность их проявления разная. Довольно высокая частота встречаемости наблюдается у компонентов 38, 55 и 75, поэтому, они не могут служить маркерами установления принадлежности линий к той или иной гетерозисной группе. В каждой группе имеются компоненты зеина, встречающиеся у всех представителей, но также и встречающиеся у линий из других групп. Отдельных компонентов, характерных только для одной гетерозисной группы не выявлено, но обнаружено наличие 2-3 компонентов зеина, которые совместно встречаются только у представителей определенной гетерозисной группы. Так компоненты 23 и 33 встречаются у линий группы Кремнистая Оттава, однако компонент 23 встречается и у линий БКР 710, БЛ 333 и ДК 744 гетерозисной группы Айдент, но в данных спектрах отсутствует компонент 33. В свою очередь компонент 33 имеется у линий группы Рейд, однако у них отсутствует компонент 23. Следовательно, совместное наличие в спектре компонентов 23 и 33 можно рассматривать как маркерную комбинацию группы Кремнистая Оттава.

Проанализировав типы спектров у линий гетерозисной группы Айдент, мы обнаружили, что комбинация компонентов 36-41-69 присутствует у всех изученных линий данной группы, в других группах она не встречается. Линии, в спектрах которых встречается сочетание компонентов 28-42, относятся только к группе Лакон. В тоже время отдельный компонент 28 встречается у представителей групп Кремнистая Оттава, Со 125, CG 12 и Рейд, но в этих спектрах нет компонента 42. Сочетание компонентов 32 и 45 выявлено только у линий гетерозисной группы Лизаргарат. Эти сочетания компонентов не обнаружены у представителей других групп. Среди изученных линий отдельный компонент

35 встречается довольно часто (в 37% случаях). Однако сочетание данного компонента с компонентом 40 наблюдается только у линий, относящихся к группе Ланкастер. Следовательно, данная комбинация может служить маркером, идентифицирующим линии данной гетерозисной группы. Отдельные компоненты 29, 33 и 37 встречаются у линий из разных гетерозисных групп. Комбинация 33-37 присутствует у линий группы Рейд и Кремнистая Оттава, 29-37 у линий групп Рейд и CG 12. Совместное присутствие в спектре трех компонентов имеет место только у линий группы Рейд. Таким образом, специфичной для спектров линий кукурузы группы Рейд является комбинация компонентов 29-33-37.

В гетерозисной группе Co 72-75 у изученных линий в электрофоретических спектрах обнаружены маркерные компоненты 25-34-45. Линии, имеющих сочетание компонентов 26-31-41 относятся к группе Co 125. Спектры с сочетанием компонентов 29-34 встречаются только у линий группы CG 12.

Выводы. Исследования показали, что по спектрам зеина можно идентифицировать и классифицировать самоопыленные линии кукурузы и в дальнейшем контролировать их генетическую целостность. Сравнительный электрофоретический анализ не выявил отдельных компонентов зеина, характерных только для одной гетерозисной группы, обнаружено наличие 2-3 компонентов, которые совместно встречаются только у представителей определенной гетерозисной группы и могут служить маркерами определения принадлежности линий к той или иной гетерозисной группе.

Литература

1. Кожухова Н. Э. Молекулярно-генетическая характеристика инбредных линий и простых гибридов кукурузы Zeamays L. / Н. Э. Кожухова, Б. Ф. Вареник, Ю. М. Сиволап // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук.праць. – К.: Аграрна наука, 2003. - С. 345-350.
2. Комарова, Г.К. Проявление эффекта гетерозиса у кукурузы на уровне белковых маркеров / Г.К. Комарова, А. Ротарь, А. Палий, А. Михалаки // Știința agricolă. 2007. № 2. С 11-16
3. Конарев В.Г., Сидорова В.В., Тимофеева Г.И. Электрофорез зеина как метод идентификации, регистрации и анализа сортов, линий и гибридов кукурузы / В.Г. Конарев, В.В. Сидорова, Г.И. Тимофеева // С.-х. биология. 1990. № 3. С. 167-177.
4. Сидорова, В.В. Анализ и регистрация линий, сортов и гибридов кукурузы по зеину методом электрофореза / В.В. Сидорова, Г.В. Матвеева, Г.И. Тимофеева // Методические указания и каталог белковых формул / под ред. В.Г.Конорева. – Спб.: РАСХН, ВИР, 1998. – 50 с.

5. Сидорова, В.В. Возможности использования зеиновых маркеров в повышении эффективности гетерозисной селекции кукурузы / В.В. Сидорова, Г.В. Матвеева, Ю.А. Керв, А.В. Конарев // Труды по прикл. бот., ген. и сел. Т 170. Спб.: ВИР, 2012. - С. 147-157.

6. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции / А.А. Созинов // - М.: Наука, 1985. - 245 с.