

УСПАДКУВАННЯ БІЛКОВИХ КОМПОНЕНТІВ НАСІННЯ ГІБРИДАМИ F₂ І F₃ ЛЬОНУ ОЛІЙНОГО

Ю.О. Махно

Інститут олійних культур НААН

В статті представлені дані електрофоретичного розподілення запасних білків насіння льону у гібридів F₂ та F₃. Досліджено закономірності успадкування певних білкових компонентів гібридного насіння льону олійного другого та третього покоління. Встановлено у гібридів другого та третього покоління ядерне успадкування в зонах Ia та IIIa за доміантним типом, та цитоплазматичне успадкування білкових компонентів у зонах IIa та V в спектрах комбінації схрещування M-12 (Айсберг)×№20034.

Ключові слова: льон олійний, гібрид F₂, гібрид F₃, насіння, електрофорез, присутність-відсутність білкового компоненту, успадкування.

Вступ. Льон олійний є однією з перспективних сільськогосподарських культур, яка застосовується в багатьох галузях промисловості, медицини та продовольства.

Дослідження з генетики ознак мають інтерес як для теоретичних узагальнень, так і для рішення практичних задач селекції, оскільки результати селекційної роботи в значній мірі визначаються повнотою інформації про генетичний контроль ознак [1]. Вирішенню цієї задачі сприяє відстеження прояву аельних варіантів запасних білків та встановлення закономірностей їх успадкування. У самозапильників, до яких відноситься льон олійний, популяція доволі швидко досягає рекомбінаційного насичення і блоки білків можуть бути ефективними генетичними маркерами при підборі пар для гібридизації або оцінці незнайомих генотипів [2].

Виходячи з основних напрямів використання насіння льону олійного (технічного та харчового), напрями селекційної роботи повинні бути орієнтовані на створення сортів з оптимальним комплексом врожайних і якісних характеристик як для харчового, так і для виробничого використання. Досягнення цих цілей найбільш ймовірно за умови використання в області практичних селекційних програм методів, що дозволяють розкривати внутрішню структуру сортів, ідентифікувати і відстежувати цінні поєднання ознак і властивостей з метою конструювання генотипів із заданими параметрами і властивостями. Одним із сучасних методів, що відповідають даним вимогам, є метод, заснований на використанні запасних білків насіння як молекулярно - біохімічних маркерів генотипів. Роботи з використанням методу білкових маркерів на льоні олійному проводилися у малому обсязі, в зв'язку з чим проблематика відпрацювання, адаптації та практичного впровадження методу біохімічних маркерів насіння є актуальною і затребуваною.

За допомогою гібридологічного аналізу в другому і третьому поколіннях гібридів можна встановити закономірності успадкування необхідних ознак, що дозволяє планувати і прогнозувати результати роботи з гібридними поколіннями,

керувати генетичними процесами, що відбуваються в гібридних популяціях, розрахувати кількість і частку вищеплення можливих фенотипів та їх різноманітність за генотипом. [1].

Метою проведених досліджень було встановлення закономірності успадкування білкових компонентів гібридного насіння льону олійного другого та третього покоління.

Матеріали та методи досліджень. Визначення характеру успадкування окремих білкових компонентів льону олійного проводили на гібридному насінні F₂, F₃.

Гібридизацію проводили за загальноприйнятою методикою, запилення здійснювали відразу ж після кастрації, враховуючи властивість протерогінії [3].

Електрофорез запасних білків льону олійного у поліакриламідному гелі виконували в лабораторії генетики та електрофорезу Інституту олійних культур НААН за розробленим способом для цієї культури. Електрофорез проводили в однакових умовах. Аналізу підпадали білки з індивідуальних насінину кількості 90 шт. Для розподілення запасних білків використовували поліакриламідний гель з концентрацією 11,8 % [4]. Джерело струму 0,08 А, напруга 400 V. Гелеві пластини фарбували у попередньо приготовленій фарбі, яка містила 0,2 г фарби Coomassі Brilliant Blue R-250.

Позиції білкових компонентів для формування у зони визначали за їх відносної рухливості (rf) [1].

Результати дослідження окремих білкових компонентів за електрофоретичним спектром обробляли згідно методу дисперсійного аналізу за Г. Ф. Лакіним [5].

Результати досліджень та їхнє обговорення. Для встановлення успадкування білкових компонентів досліджувались зразки льону М-12 (Айсберг) та ІЗ-11. Дані зразки значно відрізнялися за морфологічними ознаками білим зірчастим (М-12) та фіолетовим кольором віночка (№ 20034), урожайністю, тривалістю періоду вегетації та висотою рослини (табл. 1). Зразок М-12 являє собою сорт Айсберг, тоді як зразок № 20034 - це нащадок елітної рослини, відібраної для виведення нового сорту, оцінений в селекційних розсадниках різного віку протягом 5-6 років, має високі показники однорідності і вирівняності.

Таблиця 1

Характеристика зразка М-12 (Айсберг) і селекційного зразка № 20034 за господарсько цінними та морфологічними ознаками (2009-2011 рр.)

Сорт	Морфологічна ознака	Урожайність, т/га	Веgetаційний період, днів	Маса 1000 насінин, г	Висота рослин, см	Олійність, %
М-12	Білий зірчастий віночок, коричневе насіння	2,1±0,3	88±2,0	7,8±0,1	57±2,0	49,0±1,0
№20034	Фіолетовий віночок, коричневе насіння	1,8±0,3	103±2,0	7,9±0,1	67±2,0	48,0±1,0

Як раніше було встановлено, що електрофоретичний спектр білків гібридів являє собою суму всіх білків, властивих батьківським формам та гібридність насіння за спектром компонентів може бути виявлена лише в тому випадку, якщо в спектрі чоловічої форми є хоча б один компонент, за яким він відрізняється від спектра материнської лінії. За таким принципом проводилася підбір матеріалу для дослідження. Зразки, що вивчалися, мали електрофоретичні спектри запасних білків насіння, які значно відрізнялися один від одного за кількістю та положенням білкових компонентів (рис. 1).

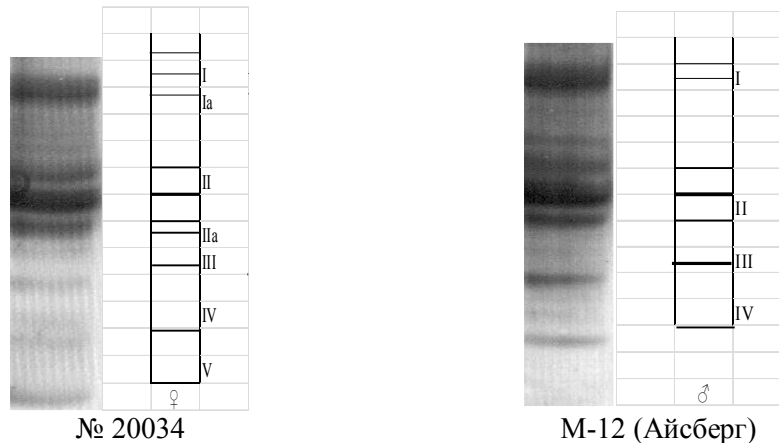


Рис. 1. Електрофоретичні спектри запасних білків насіння батьківських зразків № 20034 та М-12 (Айсберг): I-V – білкові зони

Селекційний зразок характеризувався проявом у спектрі 5 білкових зон, тоді як у зразка М-12 – 4. Також відмінністю зразка № 20034 була присутність додаткових білкових компонентів Ia та IIa.

В спектрах запасних білків насіння другого та третього покоління спостерігається перекомбінування окремих або цілих груп фракцій, зникнення деяких з них або поява нових, що дозволяє вести селекцію на створення форм з бажаним електрофоретичним складом. Також слід зазначити, що кожен компонент в електрофоретичному спектрі гібридного насіння розглядається як самостійна фенотипова ознака. Якщо у одного генотипа присутній компонент, а у іншого в даній білковій зоні він відсутній, то тут спостерігається менделевське розщеплення за присутністю-відсутністю компонента, то стверджується, що це нуль аллель. Слід зазначити, що виходячі с досліджень О.П. Митрофанової, які базуються на тому, що наявність компонента зумовлене домінантним геном, а відсутність його в цій же позиції у іншого сорта – рецесивним. Тому, спираючись на це дослідження, успадкування певних компонентів в спектрах гібридного насіння досліджували кожен окремо.

Класифікація фенотипів при обліку розщеплення в F_2 та F_3 проводилася тільки по найбільш чітких відмінностях. Як вихідна посилка при інтерпретації результатів розщеплення у гібридів другого та третього покоління передбачалося за факторами присутності-відсутності компонентів у зонах.

У гібридному поколінні насіння F_2 комбінації М-12 \times № 20034 у прямому та зворотному напрямку спостерігається подібний характер розщеплення у зоні Ia (7:1), що відповідає моделі 3:1 при $P = 0,50$ ($\chi^2=0,67$). Присутність білкового

компоненту у даній зоні є домінантною ознакою, та зумовлено більш ніж одним домінантним геном (табл. 2).

У IIIа зоні білкових компонентів спостерігається інший характер розщеплення за їх присутності-відсутності як в прямому так зворотному напрямі. Присутність-відсутність компонента в спектрах гібридів другого покоління комбінації М-12 × № 20034 6:2 (при $P=0,50$; $\chi^2 = 0$), та в спектрах гібридів другого покоління рецiproкного схрещування № 20034 × М-12 характер розщеплення 5:3 (при $P=0,50$; $\chi^2 = 0,66$). Присутність білкового компонента у даній зоні є домінантною ознакою, і має домінантний тип успадкування.

Зона IIа гібридних рослин проявлялася тільки в комбінації М-12×№ 20034. За характером успадкування можна відмітити цитоплазматичний тип. Оскільки компонент присутній у 6-ти рослин з 8-ми (6:2; $\chi^2=0$), тому його прояв можна охарактеризувати як домінантний.

За нашими даними прояв V зони можливо охарактеризувати як домінантний. Також в прямому схрещуванні № 20034×М-12 у гібридних рослин проявляється білковий компонент, який притаманний материнській формі – № 20034. Але якщо розглядати розщеплення за присутністю-відсутністю компонента, то слід зазначити два фенотипові класи, які спостерігали у співвідношенні, відсутні 6 (відсутність компонента) : 2 (присутність компонента) (3:1, $\chi^2 = 0$). Ми вважаємо, що за даною зоною спостерігається цитоплазматичне успадкування за рецесивним типом (рис. 2, табл. 2).

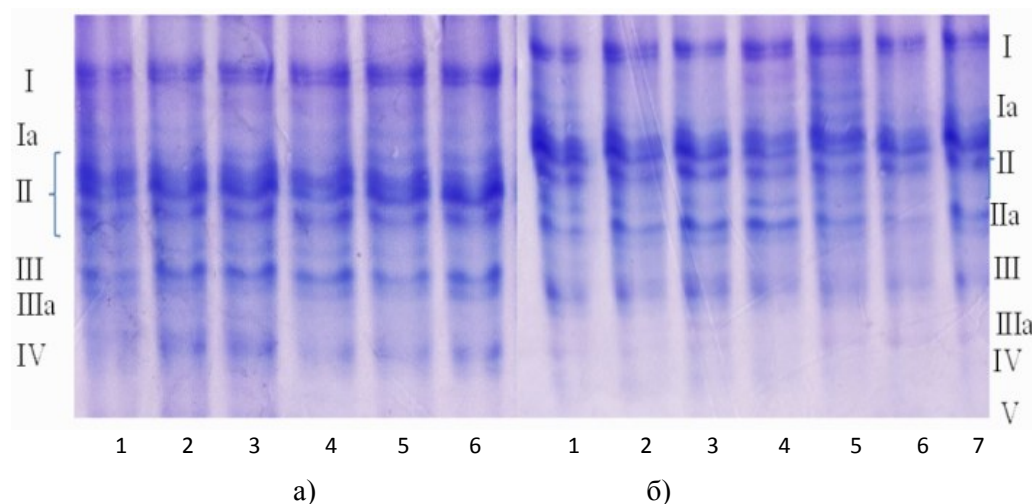
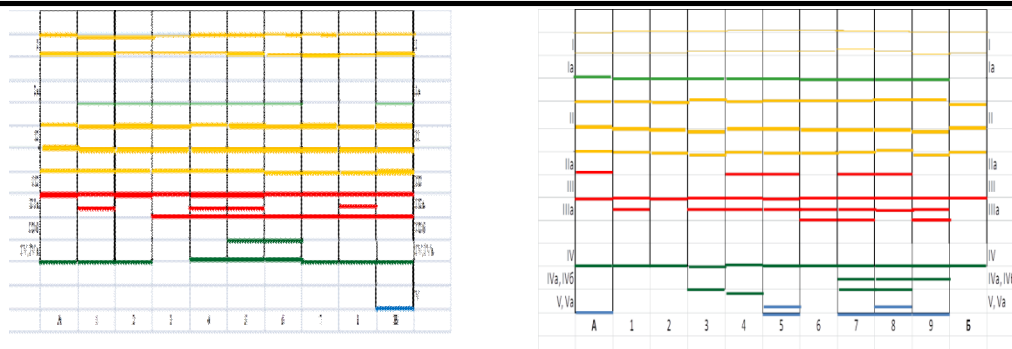


Рис. 2. Електрофоретичні спектри запасних білків гібридних насінин льону олійного гібридної комбінації: а) М-12 (Айсберг) × № 20034 та б) № 20034 × М-12 (Айсберг).

1-7 – білкові спектри окремих насінин; I, Ia, II, IIа III, IV, V – зони білкових компонентів

У дослідженнях було встановлено посилення ступеню поліморфізму спектрів запасного білку в ряду поколінь, яке проявлялось появою додаткових білкових компонентів (I, Ia, II, III, IIIа, IV, IVа, IVб, V, Va). Ми в своїх дослідженнях по успадкуванню окремих білкових компонентів орієнтувалися на зони Ia та IIIа (рис. 3).



М-12 (Айсберг) × № 20034: А – спектр сорту Айсберг (♀); Б – спектр № 20034 зразку (♂); 1-8 – фенотипові варіанти окремих білкових компонентів гібридів F₂; I, Ia, II, III, IIIa, IIIб, IV, IVa, V – білкові зони.

№ 20034 × М-12 (Айсберг): А - спектр селекційного зразку № 20034 (♀); Б – спектр сорту Айсберг (♂); 1-9 – фенотипові варіанти окремих білкових компонентів гібридів F₃; I, Ia, II, III, IIIa, IV, IVa, IVб, V, Va – білкові зони.

Рис. 3. Схеми спектрів запасних білків льону олійного окремих гібридних насінин F₃ комбінації схрещування М-12 (Айсберг) × № 20034 та № 20034 × М-12 (Айсберг)

У гібридів третього покоління комбінації М-12×№ 20034 як у прямому, так і реципрокному схрещуванні компоненти у зонах Ia та IIIa відповідають моделі розщеплення 15:1 та успадковуються генами ядра. Відсутність компонента зумовлена двома рецесивними генами (табл. 2).

Білкові компоненти у зонах IIa та V в другому поколінні мали цитоплазматичне успадкування, але в F₃ спостерігається присутність-відсутність компонентів у даних зонах, можливо в успадкуванні компонентів в представлених зонах беруть участь як гени ядра так і гени цитоплазми.

Таблиця 2

Успадкування деяких білкових компонентів у F₂ та F₃ спектрах комбінації схрещування М-12×№ 20034 (2010-2013 рр.)

М-12×№ 20034 (F ₂)				
Білкові зони	Розщеплення		Модель розщеплення	χ ²
	Присутність компонента	Відсутність компонента		
Ia	7	1	3:1	0,67
IIIa	6	2	3:1	0
№ 20034×М-12 (F ₂)				
Ia	7	1	3:1	0,67
IIa	6	2	3:1	0
IIIa	5	3	3:1	0,67
V	6	2	3:1	0
М-12 ×№ 20034 (F ₃)				
Ia	43	3	15:1	0,006
IIIa	43	3	15:1	0,006
№ 20034×М-12 (F ₃)				
Ia	42	3	15:1	0,013
IIIa	43	2	15:1	0,250

Примітка $\chi^2_{0,5}(\kappa=1) = 3,84$

Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено різний характер успадкування певних білкових компонентів у гібридів другого та третього покоління. Отримані результати вказують на ядерне успадкування в зонах Ia та IIIa за доміантним типом, та на цитоплазматичне успадкування білкових компонентів у зонах IIa та V в спектрах комбінації схрещування М-12 (Айсберг)×№ 20034.

Висновки

В результаті проведених досліджень встановлено у гібридів другого та третього покоління ядерне успадкування в зонах Ia та IIIa за доміантним типом, та цитоплазматичне успадкування білкових компонентів у зонах IIa та V в спектрах комбінації схрещування М-12 (Айсберг)×№ 20034.

Література

1. Молекулярно-биологические аспекты прикладной ботаники, генетики и селекции / [Конарев В.Г., Гаврилюк И.Г., Губарев Н.К. и др.]. – М. : Колос, 1993. – 447 с.
2. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М.: Наука, 1985. – 272 с.
3. Селекція льону олійного. Методичні рекомендації / В.О. Лях, І.О. Полякова – Запоріжжя: Запорізький національний університет, 2008. – 40 с.
4. А.с. 27671 Україна, Спосіб електрофоретичного розподілення запасних білків насіння льону / В.О. Лях, О.М. Войтович, І. О. Полякова, Ю.О. Махно, І.В. Аксьонов. – № U 2007 072 99 ; заявл. 02.07.2007; опубл. 12.11.2007 бюл. № 18.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – 351 с.

НАСЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВЫХ КОМПОНЕНТОВ СЕМЯН ГИБРИДАМИ F₂ И F₃ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО

Ю.А. Махно

В статье представлены данные электрофоретического распределения запасных белков семян льна у гибридов F₂ и F₃. Исследованы закономерности наследования определенных белковых компонентов гибридных семян льна масличного второго и третьего поколения. Установлено в спектрах гибридов второго и третьего поколения ядерное наследование в зонах Ia и IIIa по доминантному типу, и цитоплазматическое наследования белковых компонентов в зонах IIa и V комбинации скрещивания М-12 (Айсберг) × №20034.

Ключевые слова: лен масличный, гибрид F₂, гибрид F₃, семена, электрофорез, присутствие-отсутствие белкового компонента, наследование.

INHERITANCE OF PROTEIN COMPONENTS IN F₂ AND F₃ HYBRIDS OF LINSEED

Yu. O. Makhno

Institute of Oilseed Crops NAAS

Classification phenotypes in accounting splitting in F₂ and F₃ was carried out only in the most clear differences. As assumptions in

interpreting the results in hybrids splitting the second and third generations of the factors expected presence-absence of the components in the areas.

In hybrid seed F2 generation combination of M-12 × number 20034 in the forward and reverse splitting observed a similar nature in the zone Ia (7: 1), which corresponds to the model of 3: 1 at $P = 0,50$ ($\chi^2 = 0,67$). The presence of the protein component in this area is a dominant trait and is caused by more than one dominant gene. But given the small number of plants in the study more than we can say.

In zone IIIa protein components observed splitting of the different nature of their presence-absence as live as the opposite direction. The presence-absence of component spectra hybrids of the second generation M-12 × number 20034 6: 2 ($P = 0,50$; $\chi^2 = 0$), and the second generation of hybrids spectra number 20034 × M-12 character splitting 5: 3 (at $P = 0,50$; $\chi^2 = 0,66$). The presence of the protein component in this area is a dominant feature, and it should be noted dominant inheritance.

Zone IIa hybrid plants manifested only in the opposite direction (M-12 × number 20034). By the nature of inheritance can note cytoplasmic type. As a component present in plants 6 of 8 (6: 2; $\chi^2 = 0$), and this expression can be described as dominant.

According to our records manifestation V zone may be described as dominant. Also in the direction × number 20034 M-12 hybrid plants manifests protein component which is inherent in the parent form - № 20034. But if we consider the splitting of presence-absence of a component, it should be noted two phenotypic classes observed ratio, no 6 (no component): 2 (presence component) (3: 1, $\chi^2 = 0$). We believe that in this area there is a cytoplasmic inheritance for a recessive pattern.

In the third generation hybrid combination of M-12 × number 20034 both forward and reverse direction components in areas Ia and IIIa fit a pattern of splitting 15: 1 and inherited genes core. The lack of components caused by two recessive genes.

Protein components in zones IIa and V of the second generation had cytoplasmic inheritance, but there F3 presence-absence of the components in these areas, possibly inheritance components in the represented areas involved genes of the nucleus and cytoplasm genes.

Thus, as a result of studies found different nature of inheritance of certain protein components in the hybrid of the second and third generation. The results indicate nuclear, dominant inheritance zones IIIa and Ia, and the cytoplasmic inheritance of protein content in zones IIa and V spectra combination crossing M-12 × number 20034.

Keywords: flax oil, hybrid F2, hybrid F3, seed, electrophoresis, presence-absence of the protein component, inheritance.

Рецензент: Г.М. Левчук, канд. біол. наук, ст. викладач кафедри садово-паркового господарства та генетики Запорізького національного університету.