

ИЗУЧЕНИЕ ДИКОРАСТУЩЕГО СОРОДИЧА КУКУРУЗЫ ТЕОСИНТЕ И ЕГО ЕСТЕСТВЕННОГО ГИБРИДА С КУКУРУЗОЙ ПО СПЕКТРАМ ЗЕИНА

В. В. Сидорова, Г. В. Матвеева, А. В. Конарев

Установлено, что изученный образец теосинте, состоит из двух генетически различных форм. Они отличаются друг от друга по наличию в электрофоретических спектрах маркерного компонента 57 и также частотой встречаемости некоторых комбинаций компонентов. Анализ полученных данных позволяет предположить различную избирательность скрещивания этих форм теосинте с кукурузой. Преимущественно скрещиваются с кукурузой растения теосинте, у которых в спектрах зеина отсутствует маркерный компонент 57. Подобная избирательность в скрещиваниях четко проявилась в составе электрофоретических спектров зеина гибрида кукурузы и теосинте.

Введение

Теосинте (*Euchlaena* Schrad., $2n=20$) – ближайший дикорастущий сородич кукурузы (*Zea mays* L., $2n=20$) широко распространен в Мексике и некоторых районах Гватемалы. Он легко скрещивается с кукурузой в природе и в эксперименте. Теосинте является важной составляющей частью мирового генофонда кукурузы, поскольку способен существенно обогащать ее генетическую плазму [1]. В связи с этим, актуальной задачей является сохранение в природе и коллекциях в качестве улучшающего резерва изменчивости кукурузы не только разнообразия местных сортов и экзотических рас кукурузы, но и таких дикорастущих сородичей как теосинте, трипсакум (*Tripsacum* L.). Е. Веллхаузен и др. [2] показали, что наиболее продуктивны высоко устойчивые к почвенной засухе и жаростойкости расы кукурузы Мексики, т.к. как в них, вероятно, присутствует зародышевая плазма теосинте.

Успех селекции кукурузы на гетерозис в значительной степени зависит от выбора исходного материала, который должен иметь достаточное генетическое разнообразие. С этой целью селекционеры довольно часто прибегают к использованию экзотической генетической зародышевой плазмы. В частности, проводятся межродовые скрещивания кукурузы с ее дикорастущими сородичами – теосинте и трипсакумом. Изучение межродовых гибридов F1 кукурузы с теосинте показало, что такая гибридизация перспективна, так как теосинте придает гибридам повышенную устойчивость к болезням, высоким температурам воздуха и засухе и мощную вегетативную массу, а также повышает содержание белка в зерне [3]. Гетерозисный эффект наблюдается только в первом поколении, а потом продуктивность резко снижается [4].

Успех селекции кукурузы с привлечением генетического материала дикорастущих сородичей во многом зависит от знания характера и степени генетического разнообразия, а также родства с культурными формами. В последние десятилетия эффективным инструментом для решения подобного рода вопросов стало использование белковых и ДНК-маркеров. Во ВНИИР им. Н.И.Вавилова этот методический подход в течение более сорока лет успешно используется для решения практически всех актуальных проблем генетических ресурсов культивируемых растений и их дикорастущих сородичей, а также селекции и семенного контроля [5, 6]. Важное место в этих исследованиях было отведено мировому генофонду кукурузы [7]. С использованием стандартных (отечественных и международных) методов электрофореза зеина – запасного белка зерна кукурузы изучено и зарегистрировано (паспортизировано) генетическое разнообразие культуры (популяции, сорта, линии из генофонда ВИР, а также гибриды кукурузы различного происхождения) [8, 9].

Наше исследование предпринято с целью выяснения по спектрам зеина характера генетического разнообразия образца дикорастущего сородича кукурузы теосинте, собранного в Мексике экспедицией С.М. Букасова в 1926 году, а также оценки степени

участия этого дикорастущего сородича в образовании оригинального естественного его гибрида с кукурузой. Кроме того, предстояло провести среди изученных нами ранее образцов кукурузы поиск типичных для теосинте маркеров с целью определения возможности участия теосинте в становлении генофонда современных сортов кукурузы.

Были поставлены следующие задачи: выявить характерные для изученного образца теосинте компоненты зеина, определить наличие последних в спектрах естественного гибрида теосинте с кукурузой, а также у сортов и популяций кукурузы, изученных нами ранее, выяснив тем самым возможную степень участия теосинте в формировании различных сортов и популяций кукурузы.

Методы исследования

Материалом для исследований служили 96 зерновок теосинте, а также двух початков естественного гибрида кукурузы и теосинте, собранных в Мексике экспедицией С.М. Букасова в 1926 году и сохраненных в коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова.

Из литературных источников известно, что электрофоретические спектры запасных белков семян генотипичны и не зависят от года репродукции и условий выращивания растений [10, 11].

Электрофорез зеина индивидуальных зерновок образцов кукурузы и теосинте проводили в вертикальных пластинах ПААГ по стандартной методике [12, 13]. Гелевая пластина содержит 10% акриламида и 8 М мочевины. В раствор для экстракции зеина входит 6 М мочевины и 0,01 М дитиотрейтол. Электрофорез проводится без охлаждения в течение 5 ч при напряжении 500-580 В. Электрофоретические спектры зеина, содержащие от 12 до 22 основных компонентов, записывали в виде формул, как было описано ранее [12, 13].

Результаты и обсуждение

В результате электрофоретического изучения зеина зерновок теосинте выявлен значительный полиморфизм по наличию и отсутствию в их электрофоретических спектрах отдельных компонентов. Выяснено, что зеины теосинте и кукурузы характеризуются в общем сходными структурами электрофоретических спектров. В то же время спектры зеина теосинте отличаются от таковых кукурузы по частоте встречаемости отдельных компонентов, а также некоторых сочетаний (комбинаций) компонентов зеина.

Мы провели сравнительный анализ частот встречаемости отдельных маркерных компонентов и их комбинаций в спектрах зеина у теосинте, его гибрида с кукурузой и у различных сортов и популяций кукурузы, включая изученные ранее (Табл.). В таблице приведены только сорта, в спектрах которых встречаются указанные комбинации маркерных компонентов (общие с теосинте).

В электрофоретических спектрах зеина теосинте идентифицированы маркерные компоненты, а также комбинации компонентов, которые наиболее характерны и значимы для этого образца. По компонентному составу спектры теосинте разделили на две основные группы: 46% спектров имеют компонент 57 (у остальных – он отсутствует). Особенностью теосинте является наличие в его спектрах компонента 54, частота встречаемости которого составляет более 80%, а также компонента 56, который с частотой 32% встречается в группе спектров без компонента 57. В спектрах теосинте без компонента 57 с частотой встречаемости 24% найдена комбинация компонентов 46-48, тогда как в спектрах с компонентом 57 – ее только 5%. Из других особенностей белковых спектров теосинте (отличие от зеина кукурузы) – отсутствие в 48% спектров компонента 63, а также в 49% спектров компонента 55.

Таблица. Сравнительная характеристика теосинте и кукурузы по частоте встречаемости в спектрах зеина маркерных компонентов и их комбинаций

Образцы	Маркерные компоненты зеина									
	57	69	63	54	55	56	54-56 (+57)	54-56, 54-55-56 (-57)	46-48 (+57)	46-48 (-57)
	Встречаемость у образцов маркерных компонентов в %									
Теосинте	46	43	52	86	51	36	4	32	5	24
Гибрид (кукуруза x теосинте) 1 початок	16	44	44	88	64	64	0	64	8	40
Гибрид (кукуруза x теосинте) 2 початок	16	52	40	100	56	68	0	68	8	40
Мексиканская раса OAX 52	82	50	97	30	70	35	4	2	6	4
Сорт Schindelmeiser	97	0	100	45	68	40	14	2	2	0
Сорт Lancaster	76	0	97	47	66	44	6	11	6	15

При сравнении спектров теосинте по характерным для него комбинациям компонентов со спектрами изученных ранее сортов и популяций кукурузы из коллекции ВИР выявлено, что комбинация компонентов 54-56 редко встречается в сортах Schindelmeiser (2%) и Lancaster (1%), а также в Мексиканской расе OAX 52 (2%). В сорте Lancaster достаточно редко встречается комбинация компонентов 54-55-56 (10%). Комбинация компонентов 54-56 обнаружена в сортах Schindelmeiser (14%) и Lancaster (6%), а также в Мексиканской расе OAX 52 (4%). В остальных изученных сортах и популяциях кукурузы указанные выше комбинации компонентов характерные для теосинте не встречаются (Табл.).

Комбинация компонентов 46-48, характерная для спектров образца теосинте без компонента 57, встречается в сорте Lancaster (15%) и в Мексиканской расе OAX 52 (4%), тогда как в спектрах других изученных образцов кукурузы, если и встречается подобная комбинация, то только в спектрах с компонентом 57.

Таким образом, изучение образца теосинте позволило оценить его полиморфизм по спектрам зеина, определить характерные для него маркеры и оценить генетическую близость к кукурузе. На основании полученных результатов можно предположить, что некоторые из сортов и популяций кукурузы при происхождении были связаны с теосинте.

Были изучены белковые спектры зеина из зерна двух початков естественного гибрида кукурузы и теосинте. Существенных различий по наличию компонентов в спектрах зеина из зерна разных початков не обнаружено. При оценке электрофоретических спектров наблюдали снижение полиморфизма зеина.

Частота встречаемости компонента 57 в спектрах зеина из зерна каждого початка, составила всего 16%, тогда как в теосинте она составляет 46%. Кукуруза, с которой происходило скрещивание, в своих белковых спектрах этот компонент не имела. А значит, опыление кукурузы происходило предпочтительно пылью растений теосинте, в белковых спектрах зерна которых отсутствовал компонент 57. То же подтверждается присутствием комбинаций компонентов 54-56 и 54-55-56, характерных для спектров теосинте без компонента 57 (32%). В гибридных спектрах белка из зерна обоих початков частота встречаемости этих

комбинаций составляет 64 и 68% соответственно. В белковых спектрах гибридных зерен кукурузы и обоих початков теосинте частота встречаемости компонентов 46-48 составляет 40%, как и в теосинте, где частота встречаемости этой комбинации составляет 50% от спектров без компонента 57. Можно предположить, что в скрещивании теосинте и кукурузы участвовало 54% растений теосинте из зерновок, где в спектрах зеина отсутствует компонент 57 и лишь небольшая доля растений из зерен со спектрами зеина с компонентом 57. Подобную избирательность оплодотворения уже наблюдали ранее при изучении белковых спектров образцов *T. araraticum* при скрещивании его с *T. timopheevii*, где одна группа спектров образцов *T. araraticum* имела скрещиваемость от 0 до 2%, а другая – от 2 до 54% [14, 15, 16].

Частота встречаемости компонента 54 в спектрах зеина из зерновок теосинте составляет 86%, а из зерна гибридных початков – 88 и 100% соответственно. Частота встречаемости компонента 69 в спектрах зеина из зерна обоих гибридных початков, как и в теосинте составила около 50%.

В спектрах гибридных семян встречаются компоненты: 51, 55, 64, 66 и 75, которых очень мало или нет в спектрах теосинте. Эти компоненты гибридные семена, вероятно, наследовали от материнской формы кукурузы. Остальные компоненты в спектрах гибридных семян являются общими для спектров кукурузы и теосинте.

Таким образом, на основании данных электрофореза зеина установлено, что изученный образец, представляющий популяцию дикорастущего сорочиды кукурузы – теосинте, состоит из двух генетически различных форм, отличающихся друг от друга по наличию (или отсутствию) в их спектрах маркерного компонента 57, а также частотой встречаемости некоторых комбинаций компонентов. Анализ полученных нами данных позволяет высказать предположение о различной избирательности скрещивания этих форм теосинте с кукурузой. Преимущественно скрещиваются с кукурузой группа растений теосинте, у которых в спектрах зеина отсутствует маркерный компонент 57. Подобная избирательность в скрещиваниях четко проявилась в характере электрофоретических спектров зеина гибрида кукурузы и теосинте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Югенхеймер Р. У. Кукуруза. Улучшение сортов, производство семян, использование. – М.: Колос, 1979. – 519 с.
2. Wellhausen E. J., Roberts L. M., Hernandez X. M., Mangelsdorf P.C. Races of maize in Mexico. Bussey Inst. Harvard Univ. Mass., 1952. – 224 p.
3. Шмараев Г. Е. Генофонд и селекция кукурузы // *Теоретич. основы селекции*. – СПб.: ВИР. 1999. – Т. IV. – С. 19-21.
4. Grobman A., Salhuana W., Sevilla R. In collaboration with Mangelsdorf P. C. Races of maize in Peru // *Nat. Acad. Sci.* – Washington, 1961. – *Nac. Res. Coune Publ.* 915.
5. Рекомендации по использованию белковых маркеров в сортоиспытании, семеноводстве и семенном контроле // под ред. В. Г. Конарева. – М.-Л.: Госагропром СССР, ВИР. – 1989. – 20 с.
6. Конарев А. В. Биохимические и молекулярно-биологические подходы к изучению генетических ресурсов растений // *Аграрная Россия*. – 2006. – № 6. – 60 с.
7. Конарев В. Г., Ахметов Р. Р. и др. Биохимические и молекулярно-генетические аспекты гетерозиса // *Мол.-биол. аспекты прикл. бот., ген. и селекции*. – М.: Колос, 1993. – с.314-351.
8. Сидорова В. В., Матвеева Г. В., Тимофеева Г. И. Анализ и регистрация линий, сортов и гибридов кукурузы по зеину методом электрофореза / *Методические указания и каталог белковых формул* / под ред. В. Г. Конарева – С.-Пб.: ВИР, 1998. – 50 с.

9. Сидорова В. В., Конарев А. В., Матвеева Г. В., Тимофеева Г. И. Использование электрофоретического спектра зеина для прогнозирования гетерозиса у кукурузы // *Аграрная Россия*. – 2004. – № 6. – С. 34-41.
10. Конарев В. Г. // Белки пшеницы. – М.: Колос, 1980. – 350 с.
11. Конарев А. В., Губарева Н. К. и др. // Анализ генетической стабильности образцов коллекции мягкой пшеницы в процессе многолетнего поддержания путем многократных репродукций // *Аграрная Россия*. – № 6.– 2004. – С. 30-33.
12. Конарев В. Г., Сидорова В. В., Тимофеева Г. И. Электрофорез зеина как метод идентификации, регистрации и анализа сортов, линий и гибридов кукурузы // *С.-х. биология*. – 1990. – № 3. – С.167-177.
13. Идентификация, анализ и регистрация сортов, линий и гибридов кукурузы электрофорезом и изоэлектрофокусированием зеина // Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян / под ред. В. Г. Конарева – СПб.: ВИР, 2000. – С. 73-89.
14. Мигушова Э. Ф., Конарев А. В. Генетическая разнокачественность дикорастущей двузернянки Закавказья // *Генетика*. – 1972. – Т. VIII, № 6. – С.148-149.
15. Мигушова Э. Ф., Конарев А. В. Генетическая неоднородность *T. Araraticum* Jakubz. *Труды по прикл. бот., ген. и селекции* – Л., 1973. – Т. 52, вып. 1. – С. 52-58.
16. Конарев А. В. Дифференциация генома А пшениц по белкам // Автореф. дис... канд. биол. наук. – Л., 1974. – 29 с.

Сидорова В. В., канд. биол. наук;

Матвеева Г. В., канд. биол. наук;

Конарев А. В., д-р. биол. наук;

Всероссийский НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова

Key words: Teosinte, corn, zein electrophoretic spectra

Ключевые слова: теосинте, кукуруза, электрофоретические спектры зеина

STUDYING OF TEOSINTE AND ITS NATURAL HYBRID WITH CORN ON ZEIN SPECTRA

V.V. Sidorova, G.V. Matveeva and A.V.Konarev

All-Russian N.I.Vavilov Institute of Plant Industry

It is established, that the studied sample teosinte consists of two genetically various forms. They differ from each other on the presence of electrophoretic marker component 57 and also on frequency of occurrence of some combinations of components. The analysis of the received data allows to assume the various selectivity of crossing of these teosinte forms with corn. Teosinte plants with zein spectra without marker component 57 are mainly crossed to corn. Such selectivity in crossings was precisely showed in composition of corn and teosinte hybrid zein electrophoretic spectra.