

Н.А. КОЗУБ, И.А. СОЗИНОВ, А.А. СОЗИНОВ
Институт агроэкологии и биотехнологии УААН, Киев

ЧАСТОТА РЕКОМБИНАЦИИ В ЛОКУСЕ *Gli-D1* У МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ *T. AESTIVUM* L.



Методом максимального правдоподобия определена частота рекомбинации в глиадинкодирующем локусе *Gli-D1* мягкой пшеницы. Рекомбинация наблюдалась между геном, кодирующим нижний ω -компонент аллеля *Gli-D1j*, и генами, кодирующими остальные ω -глиадины этого аллеля. Частота рекомбинации составляла $0,65 \pm 0,18$ % для скрещивания между почти изогенными линиями озимой мягкой пшеницы по глиадиновым локусам *Gli-D1-4* и *Gli-B1-3* и $0,78 \pm 0,45$ % для скрещивания между сортами Юннат $\times$ Б-16.

© Н.А. КОЗУБ, И.А. СОЗИНОВ, А.А. СОЗИНОВ, 2003

Введение. Глиадины — спирторастворимые запасные белки зерна пшеницы. Основные локусы глиадинов мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. (*Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2*) находятся на коротких плечах хромосом 1 и 6 гомеологических групп [1–4]. Эти локусы содержат кластеры генов, кодирующих синтез ряда компонентов (до 9), которые наследуются как единый блок. Характерной особенностью локусов *Gli-1* и *Gli-2* является множественный аллелизм. Составлены каталоги аллельных вариантов этих локусов [5–8]. Идентифицировано 18 аллелей локуса *Gli-A1*, 17 — *Gli-B1*, 12 — *Gli-D1*, 24 — *Gli-A2*, 23 — *Gli-B2*, 19 — *Gli-D2* [8, 9].

На хромосомах первой гомеологической группы, кроме основных локусов глиадинов, *Gli-1*, есть минорные глиадиновые локусы: *Gli-A3*, *Gli-B3* [10,11], *Gli-A4*, *Gli-D4* [12, 13], *Gli-B5*, *Gli-D5* [13, 14]. Локусы *Gli-B5* и *Gli-D5* находятся на расстоянии в среднем 1,4 и 3,7 сМ от локусов *Gli-B1* и *Gli-D1* соответственно [13, 14]. Минорные локусы, как правило, кодируют синтез 0–2 компонентов, количество описанных аллельных вариантов невелико.

Есть сведения о случаях внутрикластерной рекомбинации в глиадинкодирующих локусах. Колючий [15] обнаружил рекомбинацию внутри локуса *Gli-D2* (*Gld 6D*) с частотой $2,73 \pm 1,04$ и $1,92 \pm 0,80$ %. Метаковский и др. [16, 17] обнаружили рекомбинацию внутри локуса *Gli-D1* с частотой до 1 %. Описана рекомбинация между некоторыми генами, являющимися компонентами аллелей *Gli-D1c* и *Gli-D1i* с частотой около 2 % [18]. В наших исследованиях также выявлена рекомбинация в локусе *Gli-D1*. Задачей настоящей работы было определение частоты рекомбинации между некоторыми компонентами аллелей *Gli-D1j* и *Gli-D1b*.

Материалы и методы. Материалом исследования служили зерна с растений F_2 от скрещивания сортов озимой мягкой пшеницы Юннат $\times$ Б-16 (380 растений) и зерна F_2 от реципрокного скрещивания почти изогенных линий озимой мягкой пшеницы по глиадиновым локусам *Gli-D1-4* и *Gli-B1-3* (4094 зерен). Почти изогенные линии созданы Копусем [19] на базе сорта Безостая 1.

Генотипы растений F_2 по локусам глиадинов определяли на основе анализа 5–10 отдельных зерновок с каждого растения с помощью электрофореза в кислой среде. Выделение и электрофорез глиадинов в полиакриламидном геле в кислой среде проводили, как описано нами ранее [20]. Для идентификации глиадиновых аллелей

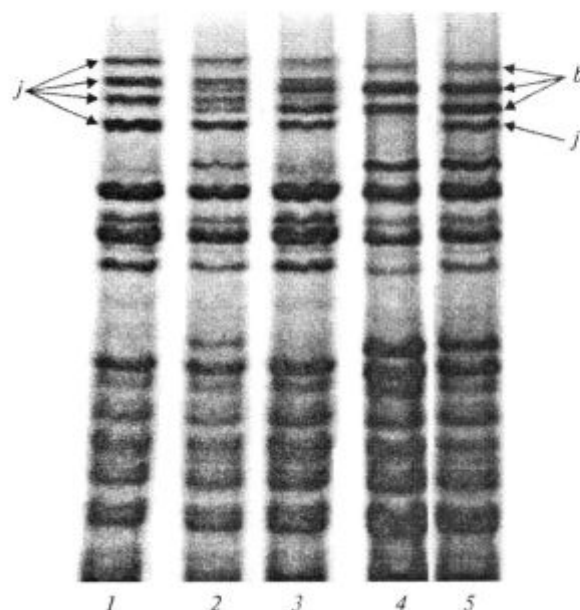
использовали каталог Собко и Поперели [7] (обозначение аллелей цифрами) и Метаковского [8] (обозначение аллелей буквами).

Частоту рекомбинации и ее ошибку определяли методом максимального правдоподобия [21, 22].

Результаты исследований и их обсуждение. В локусе *Gli-D1* сорт Юннат и линия Gli-B1-3 несут аллель «b» (*Gli-D1-1* по каталогу [7]), а Б-16 и линия Gli-D1-4 — «j» (*Gli-D1-4* по каталогу [7]). При анализе обеих гибридных комбинаций были обнаружены зерновки с рекомбинантным генотипом по локусу *Gli-D1*, имеющие ω-компоненты аллеля «b» и нижний ω-компонент от аллеля «j» (рисунок). Для удобства обсуждения такой спектр был обозначен «b^R». Два нижних ω-гладина аллеля «j» (см. каталог [8]) имеют близкую подвижность при использовании данной методики электрофореза. Поэтому не представлялось возможным надежно идентифицировать второй класс рекомбинантов (j^R) — «j» с отсутствием нижнего компонента в гомозиготном или гетерозиготном состоянии.

Генотип растений F₂ от скрещивания Юннат × Б-16 определялся анализом глатинов отдельных зерновок F₃. У растений F₂ можно различить шесть классов по локусу *Gli-D1*: 1) класс «jj», который включает генотипы, несущие четыре верхних ω-гладина аллеля «j» и гомозиготные или гетерозиготные по присутствию-отсутствию нижнего ω-компонента аллеля «j»; 2) класс «jb», несущий аллель «j» или этот аллель без нижнего ω-компонента и аллель «b»; 3) класс «bb», гомозиготный по аллелю «b»; 4) класс «b^Rb^R», который включает генотипы, гомозиготные по ω-компонентам аллеля «b» и гомозиготные по присутствию нижнего ω-компонента от аллеля «j»; 5) класс «b^Rb», который включает генотипы, гомозиготные по ω-компонентам аллеля «b» и гетерозиготные по присутствию нижнего ω-компонента от аллеля «j»; 6) класс «jb^R», несущий аллель «j» или этот аллель без нижнего ω-компонента и аллель «b^R». Ожидаемые частоты данных классов (табл. 1) использованы при получении формул для расчета частоты рекомбинации (*r*) и ее ошибки (*S_r*):

$$\begin{aligned} n[(1-r)^2/4 + 2r(1-r)/4 + r^2/4] &= n/4 = a; \\ n[2(1-r)^2/4 + 2r(1-r)/4] &= n(1-r)/2 = b; \\ n(1-r)^2/4 &= m; \quad nr^2/4 = q; \\ n2r(1-r)/4 &= nr(1-r)/2 = o; \\ n(2r(1-r)/4 + 2r^2/4) &= nr/2 = t. \end{aligned}$$



Электрофоретические спектры глатинов зерновок F₂ от скрещивания между почти изогенными линиями мягкой пшеницы по глатиновым локусам Gli-D1-4 и Gli-B1-3: 1 — генотип «jj» по локусу Gli-D1; 2, 3 — генотипы «jb», различающиеся по дозе гена; 4 — «bb»; 5 — рекомбинантный спектр «b^R». Стрелками обозначены ω-компоненты аллелей *Gli-D1j* и *Gli-D1b*

Исходя из табл. 1, получена следующая формула для подсчета частоты рекомбинации по численностям растений F₂ с разным генотипом

$$r = (2q + o + t) / (2q + 2o + 2m + t + b). \quad (1)$$

Для определения ошибки частоты рекомбинации получена формула

$$S_r = \sqrt{r(1-r)/n}.$$

Таблица 1
Ожидаемые частоты и численности классов растений F₂ в случае идентификации одного класса рекомбинантов по глатиновым компонентам среди зерен с этих растений (на примере рекомбинации в локусе *Gli-D1* с аллелями «b» и «j» у комбинации скрещивания Юннат × Б-16)

Классы растений	Ожидаемые частоты	Наблюдаемые численности	
		для формулы	в настоящей работе
jj	1/4	a	81
jb	(1-r)/2	b	210
bb	(1-r) ² /4	m	86
b ^R b ^R	r ² /4	q	0
b ^R b	r(1-r)/2	o	2
jb ^R	r/2	t	1
Сумма	1	n	380

Частота рекомбинации, рассчитанная по формуле (1) для скрещивания Юннат × Б-16, составляет $0,0078 \pm 0,0045$.

При анализе зерен F_2 на электрофореграммах можно четко различить следующие классы по глиадином локуса *Gli-D1*: 1) класс «*j.j*», который включает генотипы, несущие четыре верхние ω -компонента аллеля «*j*» и гомозиготные или гетерозиготные по присутствию-отсутствию нижнего ω -компонента аллеля «*j*»; 2) класс «*j.b*», включающий все генотипы с четырьмя верхними ω -компонентами аллеля «*j*», независимо от присутствия его нижнего ω -компонента, и ω -компоненты аллеля «*b*»; 3) класс «*b.b*», гомозиготный по аллелю «*b*»; 4) класс «*b^R*», который включает генотипы, гомозиготные по ω -компонентам аллеля «*b*» и гомозиготные или гетерозиготные по присутствию нижнего ω -компонента от «*j*» (рисунок). Ожидаемые частоты данных классов, использованные при получении формул для расчета частоты рекомбинации (r) и ее ошибки (S), приведены в табл. 2.

Исходя из обозначений табл. 2, была получена формула для подсчета частоты рекомбинации на основе численностей зерен F_2

$$r = 1 - \sqrt{m/(t+m)}. \quad (2)$$

Для определения ошибки частоты рекомбинации получена формула

$$S = \sqrt{r(2-r)/n}.$$

Частота рекомбинации, рассчитанная по формуле (2) для комбинации скрещивания между почти изогенными линиями по глиадиновым ло-

Таблица 2
Ожидаемые частоты и численности классов по электрофоретическим спектрам глиадинов в случае идентификации одного класса рекомбинантов среди зерен F_2 (на примере рекомбинации в локусе *Gli-D1* с аллелями «*b*» и «*j*» у комбинации скрещивания между почти изогенными линиями мягкой пшеницы по глиадиновым локусам *Gli-D1-4* и *Gli-B1-3*)

Классы зерновок	Ожидаемые частоты	Наблюдаемые численности	
		для формулы	в настоящей работе
<i>j.j</i>	1/4	<i>a</i>	997
<i>j.b</i>	1/2	<i>b</i>	2092
<i>b.b</i>	$(1-r)^2/4$	<i>m</i>	992
<i>b^R</i>	$r(2-r)/4$	<i>t</i>	13
Сумма	1	<i>n</i>	4094

кусам *Gli-D1-4* и *Gli-B1-3* (табл. 2), составляет $0,0065 \pm 0,0018$.

Полученные частоты рекомбинации в локусе *Gli-D1* в обеих комбинациях скрещивания достоверно не отличаются по критерию Стьюдента ($t = 0,27$).

До настоящего времени среди многообразия сортов мягкой пшеницы идентифицировано 12 аллелей локуса *Gli-D1*. Считается, что некоторые аллели произошли вследствие внутрилокусной рекомбинации [8]. Компонент с подвижностью нижнего ω -компонента аллеля «*j*» также присутствует в электрофоретических спектрах аллелей «*b*» и «*i*» [8]. Рекомбинантный аллель «*b^R*», описанный в настоящей работе, имеет спектр, аналогичный спектру аллеля «*b*». Спектр аллеля «*j*» без нижнего ω -компонента должен быть аналогичным спектру аллеля «*g*».

Полученное расстояние $0,65 \pm 0,18$ % рекомбинации является расстоянием между геном, кодирующим нижний ω -глиадин аллеля «*j*», и генами, кодирующими остальные ω -глиадины этого аллеля локуса *Gli-D1*. Следовательно, внутри сложного локуса *Gli-D1* гены, кодирующие ω -глиадиновые компоненты аллеля «*b*», аллельны генам, кодирующим четыре верхних компонента ω -глиадинов аллеля «*j*». Компонента аллеля «*b*», соответствующего нижнему ω -глиадину от «*j*», нами не выявлено.

SUMMARY. The recombination frequency at the gliadin locus *Gli-D1* of common wheat was determined by the maximum likelihood method. Recombination was observed between the gene encoding the fastest ω -component of the allele *Gli-D1j*, and the genes encoding the other ω -gliadins of this allele. The frequency of recombination was $0,65 \pm 0,18$ % for the cross between the near-isogenic lines of winter common wheat with respect to gliadin loci *Gli-D1-4* and *Gli-B1-3* and $0,78 \pm 0,45$ % for the cross between the varieties Yunnat and B-16.

РЕЗЮМЕ. Методом максимальної вірогідності визначено частоту рекомбінації в гліадинкодуючому локусі *Gli-D1* м'якої пшениці. Рекомбінація спостерігалась між геном, що кодує нижній ω -компонент алеля *Gli-D1j*, та генами, що кодують решту ω -гліадинів цього алеля. Частота рекомбінації складала $0,65 \pm 0,18$ % для схрещення між майже ізогенними лініями озимої м'якої пшениці за гліадиновими локусами *Gli-D1-4* і *Gli-B1-3* і $0,78 \pm 0,45$ % для схрещення між сортами Юннат × Б-16.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рыбалка А.И., Созинов А.А. Картирование локуса GLD 1B, контролирующего биосинтез запасных

- белков мягкой пшеницы // Цитология и генетика. — 1979. — 13, № 4. — С. 276–282.
2. Singh N.K., Shepherd K.W. Linkage mapping of the genes controlling endosperm proteins in wheat. 1. Genes on the short arm of group 1 chromosomes // Theor. and Appl. Genet. — 1988. — 75. — P. 628–641.
3. Dvorak J., Chen K.-C. Distribution of nonstructural variation between wheat cultivars along chromosome arm 6Bp: evidence from the linkage map of the arm // Genetics. — 1984. — 106. — P. 325–333.
4. Payne P.I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality // Ann. Rev. Plant Physiol. — 1987. — 38. — P. 141–153.
5. Sozinov A.A., Poperehly A.A. Genetic classification of prolamines and its use for plant breeding // Ann. Technol. Agr. — 1980. — 29. — P. 229–245.
6. Metakovsky E.V., Novoselskaya A.Yu., Kopus M.M., Sobko T.A., Sozinov A.A. Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis // Theor. and Appl. Genet. — 1984. — 67. — P. 559–568.
7. Собко Т.О., Попереля Ф.О. Частота, з якою зустрічаються алелі гліадинкодуєчих локусів у сортів м'якої озимої пшениці // Вісн. с.-г. науки. — 1986. — № 5. — С. 84–87.
8. Metakovsky E.V. Gliadin allele identification in common wheat. II Catalogue of gliadin alleles in common wheat // J. Genet. Breed. — 1991. — 45. — P. 325–344.
9. McIntosh R.A., Hart G.E., Devos K.M., Gale M.D., Rogers W.J. Catalogue of gene symbols for wheat // Proc. 9th Intern. Wheat Genetics Symp. — 1998, Saskatoon, Saskatchewan, Canada, vol. 5. — P. 108–113.
10. Собко Т.А. Ідентифікація локусу, який контролює синтез спирторозчинних білків ендосперму озимої пшениці // Вісн. с.-г. науки. — 1984. — № 7. — С. 78–80.
11. Payne P.I., Holt L.M., Lister P.G. *Gli-A3* and *Gli-B3*, two newly designated loci coding for omega-type gliadins and D subunits of glutenin // Proc. 7th Intern. Wheat Genet. Symp. — Cambridge, 1988. — 1. — P. 999–1002.
12. Radealli R., Pogna N.E., Dachkevitch T., Cacciatori P., Bianard A.M., Metakovsky E.V. Inheritance studies of the 1AS/1DS chromosome translocation in the bread wheat variety 'Perzivan-1' // J. Genet. Breed. — 1992. — 46. — P. 253–262.
13. Rodriguez-Quijano M., Carrillo J.M. Linkage map of prolamins loci *Gli-D4* and *Gli-D5* in hexaploid wheat // Plant Breed. — 1996. — 115. — P. 189–191.
14. Pogna N.E., Metakovsky E.V., Radealli R., Raineri F., Dachkevitch T. Recombination mapping of *Gli-5*, a new gliadin-coding locus on chromosomes 1A and 1B in common wheat // Theor. and Appl. Genet. — 1993. — 87. — P. 113–121.
15. Колучий В.Т. Рекомбінація в гліадинкодуєчому локусі 6D хромосоми пшениці та її вплив на продуктивність // Частинна генетика рослин : тез. докл. конф. — Київ, 1989. — Т. 1. — С. 102.
16. Метаківський Е.В., Коваль С.Ф., Новосельська А.Ю., Созинов А.А. Изучение адаптивной и селекционной ценности аллелей гліадинкодуєчого локусу хромосоми 1D ярової м'якої пшениці з допомогою аналізу гібридної популяції та колекційного набору сортів // Генетика. — 1986. — 22, № 5. — С. 843–850.
17. Метаківський Е.В. Організація сімейства гліадинкодуєчих генів — генетического маркера у пшениці // Молекулярні механізми генетических процесів. — М.: Наука, 1990. — С. 157–168.
18. Metakovsky E.V., Branlard G., Chernakov V.M., Upehnik V.P., Radealli R., Pogna N.E. Recombination mapping of some chromosome 1A-, 1B-, 1D- and 6B-controlled gliadins and low-molecular-weight glutenin subunits in common wheat // Theor. and Appl. Genet. — 1997. — 94. — P. 788–795.
19. Конусь М.М. Створення заміснених ліній по гліадиновим алелям (блокам компонентів) у озимої м'якої пшениці // Селекція та семеніводство зернових та кормових культур на Дону. — Зерноград, 1992. — С. 182–186.
20. Козуб Н.А., Созинов И.А. Особенність розщеплення по алелям гліадинкодуєчого локусу *Gli-B1* у гібридів озимої м'якої пшениці // Цитология та генетика. — 2000. — 34, № 2. — С. 69–76.
21. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. — Минск : Вышэйш. шк., 1974. — 448 с.
22. Вейр Б. Анализ генетических данных. — М.: Наука, 1995. — 400 с.

Поступила 02.06.03