

УДК 602.6:58; 575.1/2:571.1

¹Н.К. Бишимбаева*, ¹А.К. Амирова, ¹А.К. Парменова, ²К.М. Булатова

¹РГП «Институт биологии и биотехнологии растений», Казахстан, г. Алматы

²Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Казахстан, г. Алматы

*E-mail: gen_jan@mail.ru

Исследование соматоклональных линий пшеницы при помощи биохимических маркеров, характеризующих генотип

Проведено изучение электрофоретических спектров запасных белков соматоклональных линий пшеницы, полученных из длительнокультивируемых каллусных тканей. Выявлены мутации в спектрах глиадинов и глютеинов у соматоклональных линий сорта Отан с красной окраской зерна в R4 поколении, в спектре глиадинов у линии Казахстанская 25 с антоциановой окраской ушка в R1, R2 поколениях. Обнаружена нулевая мутация в спектре глютеинов у соматоклонов гибридной линии Г4 (Целинная 3С x Казахстанская 15) в R1, R2 поколениях.

Ключевые слова: культура тканей растений, соматоклональные варианты, биохимические маркеры, электрофорез, запасные белки.

N.K. Bishimbaeva, A.K. Amirova, A.K. Parmenova, K.M. Bulatova

Study somaclonal wheat lines by biochemical markers, characterizing the genotype

Investigation of storage proteins electrophoretic spectra has been carried out for wheat somaclonal lines obtained from the long-term callus tissues. Mutations in gliadin and glutenin spectra have been revealed for somaclonal R4 line of cv. Otan with red coloured grain, in gliadin spectra – for R1, R2 lines of cv. Kazakhstanskaya 25 with antocian ear. Zero mutation in glutenin spectra has been found in R1, R2 lines of G4 hybrid (Cel.3C x Kaz.15).

Keywords: plant cell culture, somaclonal variants, biochemical markers, electrophoresis, storage proteins.

Н.К. Бишимбаева, А.К. Амирова, А.К. Парменова, К.М. Булатова

Генотипті сипаттайтын биохимиялық маркерлердің көмегімен бидайдың соматоклонды линияларын зерттеуі

Ұзақ мерзімді каллустардан алынған бидайсоматоклонды линияларының қор белоктарының электрофоретикалық спектрлері зерттелді. Дәндері қызыл түсті Отан сортының R4 ұрпағында глиадиндер және глютеиндер спектрлерінде және құлақшалары антоцианды түсті Казахстанская 25 линиясының R1, R2 ұрпақтарында глиадиндер спектрінде мутациялар анықталды. Г4 гибридің (Целинная 3С x Казахстанская 15) соматоклонды линиясының R1, R2 ұрпақтарында глютеин спектрінде нөлдік мутация табылды.

Түйін сөздер: өсімдіктер клеткаларының культурасы, соматоклонды варианттар, биохимиялық маркерлер, электрофорез, қор белоктар.

Соматоклональная изменчивость – это реально существующее явление, являющееся дополнительным источником повышения генетического разнообразия для улучшения сельскохозяйственных культур [1]. Однако, природа и механизмы возникновения соматоклональной изменчивости изучены недостаточно.

В результате использования разработанной нами технологии длительной регенерации растений *in vitro* получены соматоклональные варианты пшеницы с необычными фенотипическими изменениями. Выделены соматоклональные линии, сочетающие в себе несколько ценных признаков: краснозерность и короткостебельность, большое

число зерен и белое крупное зерно, появление признака остистости, скороспелость и крупный понижающий колос [2]. Примечательно, что некоторые из этих признаков находятся под полигенным контролем (высота растений, сроки созревания, продуктивность).

Наличие таких нетипичных фенотипических изменений может быть обусловлено тем, что в основе соматоклональной вариабельности, наряду с генетической изменчивостью, может лежать явление эпигенетической изменчивости, в основе которой лежат обратимые изменения активности генов [3, 4]. Для выяснения этих вопросов необходимы детальные молекулярно-генетические исследования изменчивости, индуцируемой у растений, полученных в процессе культивирования тканей и клеток.

Одним из наиболее эффективных и удобных биохимических методов исследования изменчивости является изучение электрофоретических спектров запасных белков, которые уникальны для каждого вида, сорта, линии, не изменяются под влиянием условий выращивания и являются биохимическими маркерами, характеризующими генотип [5]. В связи с этим для изучения изменчивости соматоклональных линий пшеницы нами проведен анализ спектров запасных белков - глиадинов и глютеинов.

Материалы и методы

Объектами исследования служили соматоклональные линии различных сортов и линий мягкой пшеницы: R_4 поколения с. Отан, R_2 поколения - с. Казахстанская 25 и гибридной линии Г4 (Целинная 3С х Казахстанская 15), полученные из длительно культивируемых каллусных тканей. Выделение и электрофоретическое разделение глиадинов проводили по методике Ф.А. Поперелля [6], глютеинов - по методике U.K. Laemmli [7] в модификации К.М. Булатовой [8].

Результаты и их обсуждение

Ранее нами было показано, что в R_2 и R_3 поколениях растений-регенерантов наблюдается резкое повышение фенотипической изменчивости соматоклонов [2]. Однако, несмотря на наличие значительных изменений в морфологии и элементах структуры урожая с. Отан в R_2 , R_3 поколениях соматоклонов спектры их запасных белков

были идентичны со спектрами исходного сорта. Отличие большинства регенерантов с. Отан по α - и, частично, β -зоне глиадинов от типичных зерен исходного сорта оказалось результатом их происхождения от минорного биотипа [9].

Проведенное в данной работе исследование спектров запасных белков соматоклональных линий с. Отан R_4 поколения дало неоднозначные результаты. Соматоклоны с. Отан R_4 поколения, отличающиеся появлением остьев и низкорослостью, не отличались от контроля по спектрам глиадинов и глютеинов (данные не представлены). Также не найдено отличий от исходного сорта по спектрам запасных белков у соматоклональных линий с. Отан R_4 поколения, имеющих дымчатую и белую окраску зерна (данные не представлены).

В то же время нами получены данные в пользу наличия у соматоклональных вариантов мутаций в некоторых локусах генов запасных белков. Так, у соматоклональной линии с. Отан 2№23 с темно-красной окраской зерна в R_4 поколении отдельные зерна в « β » и « ω » зонах глиадинов имели отличия от исходного сорта, другие отличались от сорта в глиадиновой « β » и « ω », а так же « γ » зонах (таблица 1). У этой же линии в спектре глютеинов появились две дополнительные полосы в зонах медленно и средне подвижных субъединиц по локусу Glu 1. В краснозерной линии R_4 Отан 2№23 в глютеиновом спектре под влиянием Glu 1D генов некоторые зерна оказались гетерозиготными. Так, вторая краснозерная линия проявила гетерозиготность под влиянием локусов Glu 1B, Glu 1D (таблица 1). В целом, картина полученных спектров глютеинов подобна спектру растений гетерозиготных по глютеинин кодирующим локусам.

У соматоклональной линии с. Казахстанская-25 R_1 поколения, характеризующейся антоциановой окраской ушка, в спектрах глютеинов различий не обнаружено (рисунок 1 а). Однако, выявлены изменения в спектрах глиадинов по ω - и α -зоне, которые сохранились в R_2 потомстве от самоопыления, что свидетельствует о наследовании и генетической природе этих изменений (рисунок 1б).

У соматоклона гибрида Г-4 R_1 поколения, отличающегося появлением остьев, обнаружена нулевая мутация в спектре глютеинов, которая полностью сохранилась в R_2 поколении (рисунок 2а). Исходная линия гибрида Г-4 имеет формулу по спектру глютеинов 2*; 7+9; 5+12. В резуль-

тате обнаруженной нулевой мутации по Glu 1D локусу у соматклона в спектре высокомолекулярных субъединиц (ВМС) отсутствуют две субъединицы, и его формулу можно записать: 2*; 7+9; 0+12. Получение нулевых мутантов по 1D хромосоме – явление очень редкое, и они могут быть использованы в качестве модели для изучения вклада отдельных субъединиц в качество зерна [10]. Спектры глиадинов соматклональных вариантов Г-4 не отличаются от исходной гибридной линий Г-4 (рисунок 2б).

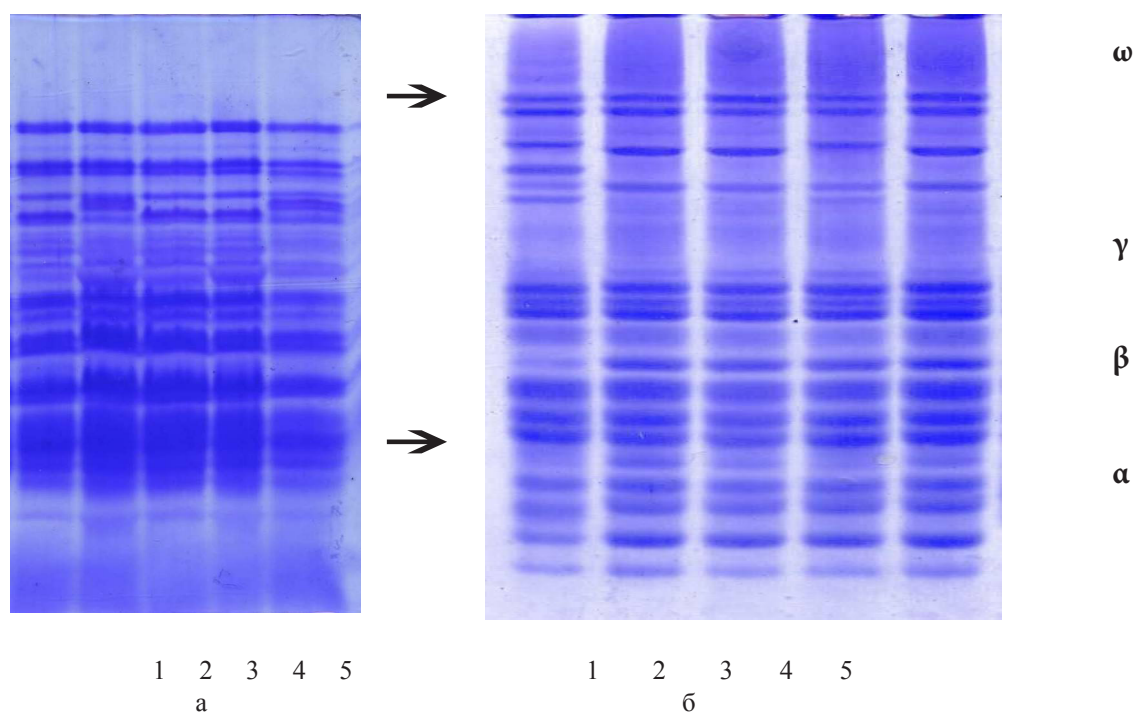
Таким образом, электрофоретическое изучение запасных белков у соматклональных ва-

риантов, полученных из длительно культивируемых каллусов пшеницы, позволило выявить изменения на генетическом уровне, некоторые из которых могут сохраняться в последующих поколениях. Однако, это не исключает вклада эпигенетической изменчивости в формировании фенотипа соматклонов, т.к. нами не выявлено изменений в спектрах запасных белков у многих форм с значительными изменениями морфологии, продуктивности и сроков созревания. В дальнейшем нами планируется исследование соматклональной изменчивости с использованием молекулярных ДНК маркеров.

Таблица 1 – Формулы спектра запасных белков по глютенину у соматклональных линий R₄ поколения сорта Отан

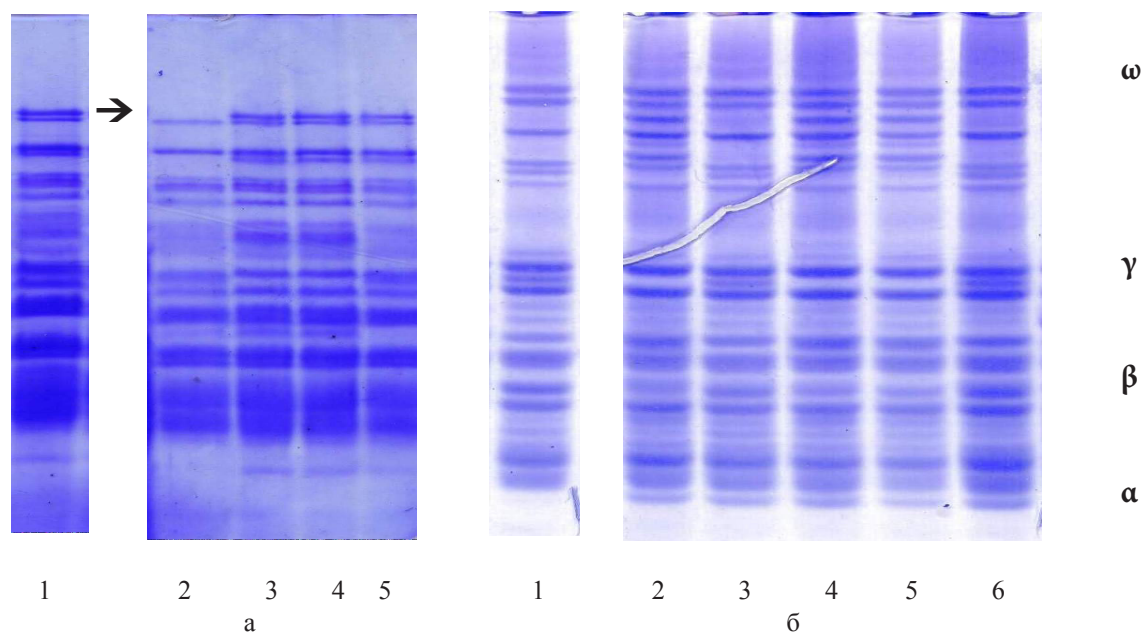
Сорта	Glu 1A	Glu 1B	Glu 1D
Контроль (с. Отан)	2*	7+9	5+10
1 (R ₄ Отан 2№23)	2*	7+8	5+10/2+10
2 (R ₄ Отан 2№23)	2*	7+8/7+9	5+10/2+10
3 (R ₄ Отан 2№23)	2*	7+8/7+9	2+10

Примечание: * – спектр белков по локусу Glu 1A



Обозначения: (а) 1-4 – исходный сорт (контроль); 5 – соматклональная линия; (б) 1 – соматклональная линия, 2-5 – исходный сорт (контроль).

Рисунок 1 – Спектры глютеинов (а) и глиадинов (б) соматклональных линий R₁ поколения сорта Казахстанская-25



Обозначения: 1 – исходная линия Г-4 (контроль); 2-6 – соматональные варианты R₁ поколения линии Г-4.

Рисунок 2 – Спектры глютеинов (а) и глиадинов (б) соматональных вариантов гибридной линии Г-4 (Целинная 3С х Казахстанская 15).

Литература

- 1 Larkin P.J., Scowcroft W.R. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell culture for plant improvement // *Theor. and Appl. Genet.* – 1981. – Vol. 60, №4. – P. 197-214.
- 2 Бишимбаева Н.К., Амирова А.К., Беглов Р.Б., Оразалы М.К., Рахимбаев И.Р. Расширение спектра генетической изменчивости пшеницы на основе клеточной технологии длительной регенерации растений *in vitro* // Доклады НАН РК. – 2005. – № 5. – С. 71-76.
- 3 Богданова Е.Д. Эпигенетическая изменчивость, индуцированная никотиновой кислотой у *Triticum aestivum L.* / Сб. науч. трудов. Эпигенетика растений. – Новосибирск, 2005. – С. 176 -184.
- 4 Кирикович С.С., Левитес Е.В. Факторы, влияющие на эпигенетическую изменчивость у растений / Сб. науч. трудов. Эпигенетика растений. – Новосибирск, 2005. – С. 144 - 161.
- 5 Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции – М.: Наука, 1985. – 272 с.
- 6 Попереля Ф. А. Полиморфизм глиадина и его связь с качеством зерна, продуктивностью и адаптивными свойствами сортов мягкой озимой пшеницы // Доклады ВАСХНИЛ. – 1989. – №3. – С. 138 -149.
- 7 Laemmli U.K. Cleavage of Structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T. // *Nature.* – 1970. – Vol. 227, №4. – P. 178 - 189.
- 8 Булатова К. М. Изучение компонентного состава глютеина пшеницы // Вестник сельскохозяйственных наук Казахстан. – 1985. – №4. – С. 37 - 39.
- 9 Амирова А.К., Маналбаев Д.Р., Бишимбаева Н.К., Булатова К.М., Богданова Е.Д., Рахимбаев И.Р. Морфологическое и биохимическое изучение растений-регенерантов из длительнокультивируемых каллусных тканей пшеницы // Вестник КазНУ, серия биологическая. – 2002. – № 3(18). – С. 52 - 58.
- 10 Булатова К. М., Жамбакин К. Ж. Изменчивость электрофоретического спектра высокомолекулярных субъединиц глютеина у дигаплоидной линии пшеницы // Биотехнология. Теория и практика. – 2006. – №3. – С. 41- 46.