

Е. В. ЛЕВИТЕС, С. И. МАЛЕЦКИЙ, Л. Е. МОНАСТЫРЕВА,
член-корреспондент АН СССР Ф. Э. РЕЙМЕРС, Э. Е. ХАВКИН

ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ И ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ У КУКУРУЗЫ (*ZEА МАУS L.*)

Алкогольдегидрогеназа (К.Ф.1.1.1.1.) — удобная модель для исследования вопроса о влиянии генотипической среды и внешних условий на фенотипическое проявление отдельного гена у растений. Было показано, что АДГ* у кукурузы контролируется двумя генами (¹, ²).

Задачей работы было: 1) изучить спектр изоферментов АДГ в щитках покоящихся семян кукурузы и его наследование, а также оценить полиморфизм по *Adh*₁-гену инбредных линий кукурузы, наиболее часто используемых в селекции; 2) изучить влияние генотипа на проявление *Adh*₁-гена путем сравнения величин активности АДГ у разных линий кукурузы; 3) оценить влияние внешних условий на проявление *Adh*₁-гена в инбредных линиях урожая разных лет; 4) изучить изменения величины активности АДГ при скрещивании линий с разной активностью.

Инбредные линии кукурузы выращивали на одном и том же участке с максимально выраженными условиями в районе Адлера в летний период 1970—1973 гг. В опыт брали четыре початка каждой линии и анализировали по шесть отдельных щитков, выделенных из семян каждого початка после двухчасового замачивания при 4°. Щитки растирали в четырехкратном объеме 0,1 *M* трис-НСI-буфера, содержащего 0,01 *M* 2-меркаптоэтанол. К гомогенату добавляли десятикратный объем линейного полимера акриламида и центрифугировали при 18 000 *g* в течение 20 мин. Надосадочную жидкость использовали одновременно для дискового электрофореза в 7,5% полиакриламидном геле (³) и для измерения активности по скорости восстановления НАД (⁴). Изоферменты АДГ выявляли, инкубируя гели в течение 10 мин. в смеси, содержащей 0,05 *M* этанол, 0,5 мг/мл НАД, 0,15 мг/мл феназинметасульфата, 0,5 мг/мл пирротетразолиевого синего в 0,03 *M* трис-НСI-буфере (рН 8,5). В качестве внутреннего маркера использовали гемоглобин, что значительно увеличивает разрешающую способность метода (⁵). Точность количественных измерений активности 7%. Разброс величин активности между растениями одной линии не превышал 20%. Содержание растворимого белка в экстракте определяли по методу Лоури и др. (⁶).

В щитках исследованных линий кукурузы обнаружено два изофермента АДГ, отличающихся по электрофоретической подвижности (зона I на рис. 1). Следуя системе обозначений, предложенной Шварцем (¹, ⁷), эти изоферменты, контролируемые локусом *Adh*₁, мы обозначили как *ADH*₁^F (быстрый) и *ADH*₁^S (медленный). В некоторых линиях обнаружены слабые полосы в быстро мигрирующей зоне II. Эти изоферменты являются гетеродимерами, состоящими из субъединиц *ADH*₁ и продуцируемых локусом *Adh*₂ субъединиц *ADH*₂ (⁸). У гибридов, полученных от скрещивания двух линий, различающихся по изоферментам локуса *Adh*₁, в зоне I выявляются три полосы ферментативной активности: два родительских варианта и один гибридный — гетеродимер *ADH*₁^F·*ADH*₁^S. При самоопылении этого гибрида в потомстве обнаружено 53 щитка FF-типа,

* АДГ — фермент алкогольдегидрогеназа; *Adh*₁ и *Adh*₂ — гены, контролирующие синтез алкогольдегидрогеназы; *ADH*₁ и *ADH*₂ — димерные молекулы алкогольдегидрогеназы или их субъединицы.

119 щитков FS-типа и 60 щитков SS-типа. Это подтверждает аллельность генов Adh_1^F и Adh_1^S .

Из 118 исследованных нами линий 8 были Adh_1^S/Adh_1^S гомозиготами, 109 Adh_1^F/Adh_1^F гомозиготами и одна Adh_1^F/Adh_1^S гетерозиготой.

Для того чтобы оценить влияние генотипической среды на фенотипическое проявление Adh_1 -гена, измеряли удельную абсолютную активность АДГ в щитках 10 инбредных линий. Показано, что линии, гомозиготные по Adh_1^F -аллелю, различаются по величине удельной активности в полтора-два раза, а по абсолютной активности в 2–3 раза (табл. 1). Поскольку на электрофореграмме изоферменты зоны II проявляются во много раз слабее, чем изоферменты зоны I, можно считать, что вклад локуса Adh_2 в абсолютную и удельную активность АДГ очень незначителен. Таким образом, наблюдаемая активность АДГ в щитках инбредных линий представляет собой фенотипическое проявление практически только гена Adh_1 . 2–3-кратные различия по абсолютной активности фермента у различных линий, гомозиготных по Adh_1^F -аллелю, указывают, что на этот признак оказывает влияние генотипическая среда клетки. Аналогичные результаты получены также Эфроном для кислой фосфатазы (9).

Условия выращивания в разные годы изменяют активность АДГ в инбредных линиях. Если удельная активность в линиях А-392, MS-211, А-357, П-820 изменялась в течении четырех лет незначительно, то в остальных линиях обнаружены более сильные колебания величин активности (табл. 2).

Таким образом, изменчивость фенотипического проявления гена Adh_1 при варьировании внешних условий зависит от генотипа линии.

Выявлена сильная положительная корреляция между изменением абсолютной активности АДГ и содержанием растворимого белка в щитке в разные годы ($r=0,9$). По-видимому, изменения абсолютной активности АДГ в щитке отражают какие-то общие процессы, связанные с синтезом белка.

Сравнивая величину активности АДГ в щитках гибридов и их родительских линий, мы обнаружили, что величины активности АДГ у гибридов F_1 зависят от генотипа исходных родительских линий (табл. 3).

Абсолютная активность АДГ может наследоваться по доминантному типу (гибриды Oh-43Rf \times А-357, MS-211 \times А-392, Вир-137 \times А-392, А-357 \times MS-211), т. е. активность фермента у гибридов примерно равна

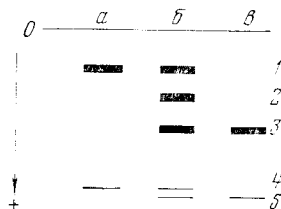


Рис. 1. Спектр изоферментов алкогольдегидрогеназы в щитках кукурузы. а — линия генотипа Adh_1^S/Adh_1^S ; б — гибрид генотипа Adh_1^S/Adh_1^F ; в — линия генотипа Adh_1^F/Adh_1^F . Зона I: изоферменты 1, 2, 3, зона II: изоферменты 4, 5 (см. текст)

Таблица 1
Активность АДГ в щитках инбредных линий кукурузы, гомозиготных по Adh_1^F -аллелю (урожай 1973 г.)

Линия	Уд. акт. АДГ, нмол/мин на 1 мг растворим. белка экстракта	Абс. акт. АДГ, нмол/мин на 1 щиток	Линия	Уд. акт. АДГ, нмол/мин на 1 мг растворим. белка экстракта	Абс. акт. АДГ, нмол/мин на 1 щиток
А-392	355	440	W-240	410	800
А-357	335	510	ВИР-44	240	560
MS-211	270	700	Pa-11	390	595
R-181	390	650	W-153R	550	900
WF-9	230	250	Oh-43Rf	565	865

Таблица 2

Активность АДГ в щитках инбредных линий кукурузы урожая 1970—1973 гг. *

Линия	1971 г.		1972 г.		1973 г.	
	Уд. акт.	Абс. акт.	Уд. акт.	Абс. акт.	Уд. акт.	Абс. акт.
A-392	120	101	130	134	118	95
A-357	104	56	89	48	87	80
MS-211	133	143	100	109	120	83
П-820 **	127	51	—	—	111	57
ВИР-137 **	—	—	85	61	76	52
WF-9	100	92	75	97	55	26
W-240	69	28	90	74	141	82
ВИР-144	122	94	153	250	100	90
Pa-11	116	83	134	238	156	140
W-153R	92	54	200	107	111	62
Oh-43RF	61	27	60	47	108	46
A-509	34	38	43***	54***	—	—

* Для каждой линии уровень активности АДГ в 1970 г. принят за 100%.

** Линии, гомозиготные по Adh_1^S аллелю.

*** Линии, выращенные в теплице.

Таблица 3

Абсолютная активность АДГ в гибридах и в исходных родительских линиях, выращенных в 1972 г.

Линия и гибрид	Абс. акт., нмол/мин на 1 щиток	Линия и гибрид	Абс. акт., нмол/мин на 1 щиток	Линия и гибрид	Абс. акт., нмол/мин на 1 щиток
Oh-43Rf	880	ВИР-137 *	500	Oh-43Rf	880
Oh-43Rf × A-357	1070	ВИР-137 × A-392	685	Oh-43Rf × MS-211	320
A-357	300	A-392	765	MS-211	700
MS-211	700	A-357	300	A-357	300
MS-211 × ВИР-137	800	A-357 × MS-211	300	A-357 × A-392	78
ВИР-137	500	MS-211	700	A-392	765

* Линия ВИР-137 гомозиготна по Adh_1^S -аллелю, остальные линии гомозиготны по аллелю Adh_1^F .

таковой у одной из родительских линий. Доминировать может как низкий, так и высокий уровень активности фермента. Хотя для двух из четырех гибридов отмечено некоторое превышение активности фермента по сравнению с исходными линиями, однако эти превышения не выходят за пределы 20-процентного разброса значений активности, характерного для родительских линий. У двух гибридов (Oh-43Rf × MS-211, A-357 × A-392) активность фермента значительно ниже, чем у родительских линий.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений
Сибирского отделения Академии наук СССР

Поступило
7 VI 1974

Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Академии наук СССР
Новосибирск

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ D. Schwartz, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 56, 1431 (1966). ² J. G. Scandalios, Biochem. Gen., v. 1, 1 (1967). ³ В. И. Сафонов, М. П. Сафонова, В кн.: Биохимические методы в физиологии растений. «Наука», 1971, стр. 113. ⁴ И. В. Зеленева, Э. Е. Хаевин, Онтогенез, т. 2, 311 (1971). ⁵ J. B. Johnson, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 68, 997 (1971). ⁶ O. H. Lowry et al., J. Biol. Chem., v. 193, 265 (1951). ⁷ D. Schwartz, Science, v. 164, 585 (1969). ⁸ M. Freeling, D. Schwartz, Biochem. Gen., v. 8, 27 (1973). ⁹ Y. Efron, Biochem. Gen., v. 5, 33 (1971).