



# Наследование белковых маркеров в ряду поколений межвидовых гибридов хлопчатника

Ш. Юнусханов , З.А. Абдуразакова

Институт генетики и экспериментальной биологии растений Академии наук Республики Узбекистан, Ташкентская область, Узбекистан

Представлены результаты изучения наследования белковых маркеров в разных поколениях межвидовых гибридов хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. × *G. barbadense* L. и *G. barbadense* L. × *G. hirsutum* L. При выведении этих гибридов вид *G. hirsutum* был представлен карликовыми растениями, полученными вследствие мутации, индуцированной ранее гамма-излучением, а вид *G. barbadense* – сортом С-6037. Растения вида *G. hirsutum* имели белковый маркер Н-0,13, а у растений вида *G. barbadense* гомологичный маркер был представлен белком В-0,18. Более ранними исследованиями установлено, что в межвидовых скрещиваниях эти маркеры проявляют себя как аллели одного локуса. Это позволило использовать данные маркеры для анализа соотношений фенотипических классов в ряду поколений межвидовых гибридов, включая  $F_2$ ,  $F_9$  и  $F_{10}$ . При проведении исследований растения, содержащие только один тип белка (Н-0,13 или В-0,18), рассматривали как гомозиготы по соответствующему гену, а растения, содержащие оба белка (Н-0,13 и В-0,18), – как гетерозиготы. У ряда полиморфных по указанным белкам потомств наблюдалось достоверное изменение соотношения фенотипических классов, проявлявшееся как смещение в сторону увеличения или уменьшения доли какого-либо гомозиготного фенотипического класса либо как достоверное увеличение или уменьшение доли гетерозиготного класса. Электрофоретический состав белков семян исследуемых образцов хлопчатника оставался неизменным до девятого поколения гибридов, но в десятом поколении некоторые гетерозиготные растения давали потомство, в семенах которых отсутствовал белок с электрофоретической подвижностью 0,70. Такие растения принадлежали гомозиготному фенотипическому классу, у которого выявляется маркер Н-0,13.

Ключевые слова: хлопчатник; *Gossypium hirsutum* L.; *G. barbadense* L.; карликовая форма; реципрокные гибриды; белковые маркеры.

## Inheritance of protein markers in the succession of generations of interspecific hybrids of cotton

Sh. Yunuskhonov , Z. Abdurazakova

Institute of Genetics and Plant Experimental Biology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent region, Uzbekistan

This paper presents the results of studying the inheritance of protein markers in different generations of interspecific hybrids of cotton *Gossypium hirsutum* L. × *G. barbadense* L. and *G. barbadense* L. × *G. hirsutum* L. While these hybrids were in development, the species *G. hirsutum* was represented by dwarf plants and the species *G. barbadense*, by variety С-6037 plants. *G. hirsutum* plants had protein marker Н-0.13 and *G. barbadense* plants had the homologous marker, protein В-0.18. Previous studies demonstrated that in interspecific crosses these markers behave as alleles of the same locus. This allowed these markers to be used for analysis of the ratios of phenotypic classes in the succession of generations of interspecific hybrids, including  $F_2$ ,  $F_9$  and  $F_{10}$ . In these studies, the plants with only one type of protein (Н-0.13 or В-0.18) were regarded as homozygous for the corresponding gene, while plants with both proteins (Н-0.13 and В-0.18), as heterozygous. Some polymorphic progeny showed a significant shift in the ratios of phenotypic classes. These changes were observed as an increased or a decreased share of a particular phenotypic class, or as a significant increase or decrease in the proportion of the heterozygotes. The electrophoretic protein composition of cotton seed samples remained unchanged until the tenth generation of hybrids, but in the tenth generation, some heterozygous plants gave offspring, the seeds of which lacked protein with an electrophoretic mobility of 0.70. Plants in which this protein was absent belonged to the homozygous phenotypic class with marker Н-0.13.

Key words: cotton; *Gossypium hirsutum* L.; *G. barbadense* L.; dwarf form; reciprocal hybrids; protein markers.

### КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Юнусханов Ш., Абдуразакова З.А. Наследование белковых маркеров в ряду поколений межвидовых гибридов хлопчатника. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(5):653-657. DOI 10.18699/VJ16.160

### HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Yunuskhonov Sh., Abdurazakova Z. Inheritance of protein markers in the succession of generations of interspecific hybrids of cotton. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(5):653-657. DOI 10.18699/VJ16.160

УДК 581.3:633.511

Поступила в редакцию 11.03.2015 г.

Принята к публикации 24.02.2016 г.

© АВТОРЫ, 2016

Род Хлопчатник (*Gossypium*) включает в себя около 50 видов, в число которых входят диплоидные виды и естественные амфидиплоиды (Fryxell, 1984). Мировое производство хлопка базируется в основном на культивировании двух амфидиплоидных видов – *G. hirsutum* L. и *G. barbadense* L. На их долю приходится соответственно около 90 и 5 % всего производства хлопкового волокна (Wendel et al., 1992).

В настоящее время актуальны исследования, посвященные выявлению молекулярных маркеров, наследование которых коррелирует с наследованием хозяйственно ценных признаков растений. С этой целью используют полиморфизм фрагментов ДНК (Lazo et al., 1994; Straub et al., 1996; Ulloa, Meredith, 2000), а также полиморфизм белков и изоферментов (Левитес, 1986; Глазко, Созинов, 1993; Фарбер, 1994). Следует отметить, что методы белковых и изоферментных маркеров остаются самыми доступными и более экономичными по сравнению с методами анализа фрагментов ДНК. В результате сравнительного исследования белков семян различных сортов культивируемого хлопчатника выявлены водорастворимые белковые маркеры, обозначенные символами Н-0,13 у вида *G. hirsutum* и В-0,18 у вида *G. barbadense*, а также система буферорастворимой фракции белков АС и ВД (Юнусханов, Ибрагимов, 1984, 1988; Юнусханов, Абдуразакова, 2009; Юнусханов и др., 2009). Контролируемые моногенно и проявляющие себя в межвидовых скрещиваниях как аллельные варианты (Юнусханов, Ибрагимов, 1984, 1988), эти белки служат удобными биохимическими маркерами в различных генетических экспериментах, в том числе при проведении исследований, направленных на изучение взаимосвязи разных хозяйственно ценных и морфобиологических признаков. В то же время использование белковых и изоферментных маркеров имеет важное самостоятельное значение в изучении функционирования растительного генома.

У хлопчатника среди гибридов  $M_2$ , полученных путем опыления цветков растений сорта С-4727 пыльцой сорта Ташкент-3 средневолокнистого вида *G. hirsutum*, облученной гамма-лучами  $Co^{60}$  в дозе 1,0 кР, была выделена форма, характеризующаяся карликовостью (Мухамеджанова, 1979). Признак карликовости оказался постоянно расщепляющимся в отношении 1 : 2 (нормальные растения : карликовые растения). На основании генетического анализа сделано заключение о том, что данная линия содержит летальный ген *Letdw*, гетерозиготное состояние которого определяет признак карликовости растений, а гомозиготные по данному гену формы погибают на ранних стадиях развития проростков (Абзалов, 2008).

Цель настоящего исследования – изучение наследования белковых маркеров Н-0,13 и В-0,18 в ряду поколений рецiproкных межвидовых гибридов, полученных скрещиванием карликовой формы вида *G. hirsutum* с сортом С-6037 вида *G. barbadense*.

## Материалы и методы

Материалом для исследования служили семена различных поколений рецiproкных гибридов, полученных скрещиванием линии Карлик средневолокнистого вида *G. hirsutum* с сортом С-6037 тонковолокнистого вида *G. barbadense*.

Взятые в скрещивание родительские формы были выращены из семян растений, самоопыленных в течение трех поколений. С целью выделения высокоизогенных линий хлопчатника, различающихся только по белковым маркерам Н-0,13 и В-0,18, каждый год из гибридных популяций Карлик × С-6037 и С-6037 × Карлик отбирали семена от растений, гетерозиготных по белковым маркерам. Эти семена высевали для получения следующего поколения, в котором также для получения потомств использовали только гетерозиготные растения. Следует отметить, что семена из каждого поколения растений отбирали из самоопыленных коробочек хлопчатника.

Подготовку семян для выделения белков и электрофоретический анализ полученных экстрактов проводили по методам, описанным ранее (Юнусханов, Ибрагимов, 1984). Результаты расщепления анализируемых потомств по белковым маркерам обработаны статистически с использованием критерия  $\chi^2$  (Гершензон, 1979).

## Результаты и обсуждение

Соотношения гомозиготных (Н-0,13 и В-0,18) и гетерозиготных (Н-0,13 + В-0,18) фенотипов в потомствах  $F_2$  рецiproкных гибридов представлены в табл. 1. Видно, что в гибридной комбинации С-6037 × Карлик соотношение фенотипов резко отличается от менделевского соотношения 1 : 2 : 1. Ранее при изучении различных комбинаций межвидовых гибридов было показано, что белковые маркеры Н-0,13 и В-0,18 являются аллельными и их наследование имеет кодоминантный и моногенный характер (Юнусханов, Ибрагимов, 1984, 1988).

Полученные в настоящей работе результаты могут быть обусловлены следующими возможными событиями: стерильностью растений, содержащих определенный набор белковых маркеров; позднеспелостью определенных генотипов, приводящей к недополучению урожая от этих растений; летальностью тех или других генотипов, контролирующей образование этих белковых маркеров. Однако экспериментальные работы с данными гибридами показали, что стерильные растения и растения с позднеспелыми коробочками составляли небольшую долю – 5 % от общего количества растений.

Наши результаты хорошо согласуются с известными данными, полученными на других объектах. В большом количестве работ обсуждается смещение расщепления у растений, обнаруженное при использовании в генетических исследованиях молекулярных маркеров (Yamagishi et al., 1996; Maheswaran et al., 1997; Голоенко, Давыденко, 2005). При изучении наследования ядерных генов ячменя, детерминирующих различные морфологические маркерные признаки растений, в гибридных популяциях обнаружено изменение менделевского моногенного наследования по девяти маркерным генам в зависимости от направления скрещивания (Голоенко и др., 2002). Нарушение частоты аллелей в потомствах растений может возникать по разным физиологическим и генетическим причинам (Голоенко, Давыденко, 2005). Чаще всего смещение расщепления появляется по причине отбора мужских гамет, вызванного влиянием среды или различной конкурентной способностью генетически вариабельной пыльцы. В гибридной популяции от межвидовых

**Таблица 1.** Расщепление в популяциях F<sub>2</sub> рецiproкных межвидовых гибридов хлопчатника по белковым маркерам

Комбинация	Кол-во растений, содержащих белковые маркеры			$\chi^2(1:2:1)$	p
	H-0,13	H-0,13+B-0,18	B-0,18		
С-6037 × Карлик	37	33	13	17,361	<0,001
Карлик × С-6037	18	18	16	5,076	>0,05

**Таблица 2.** Расщепление в семенном потомстве F<sub>9</sub> межвидовых гибридов хлопчатника по наличию белков H-0,13 и B-0,18

Линия	Кол-во растений, содержащих белковые маркеры			$\chi^2(1:2:1)$	p
	H-0,13	H-0,13+B-0,18	B-0,18		
F <sub>9</sub> С-6037 × Карлик					
ЛБМ-6	23	26	20	4,449	>0,05
ЛБМ-7	29	45	30	1,904	>0,05
ЛБМ-8	30	40	38	8,444	<0,05
ЛБМ-9	19	30	48	31,454	<0,001
F <sub>9</sub> Карлик × С-6037					
ЛБМ-10	14	9	14	9,757	<0,01
ЛБМ-11	23	51	18	1,630	>0,05
ЛБМ-12	25	45	17	1,575	>0,05
ЛБМ-13	16	44	18	1,385	>0,05
ЛБМ-15	18	33	33	9,214	<0,01
ЛБМ-16	15	18	14	2,617	>0,05

**Таблица 3.** Расщепление в семенном потомстве отдельных растений поколения F<sub>9</sub> рецiproкных гибридов хлопчатника по наличию белков H-0,13 и B-0,18

Линия	Кол-во семян, содержащих белковые маркеры			$\chi^2(1:2:1)$	p
	H-0,13	H-0,13+B-0,18	B-0,18		
F <sub>9</sub> С-6037 × Карлик					
ЛБМ-6	19	66	15	10,56	<0,01
ЛБМ-8	30	48	22	1,44	>0,05
F <sub>9</sub> Карлик × С-6037					
ЛБМ-10	21	89	40	10,04	<0,01

скрещиваний *Lycopersicon esculentum* × *L. chmielewskii* нарушение расщепления было обнаружено по 68,5 % из 70 изученных признаков (Paterson et al., 1988).

Однако наряду с внешними воздействиями огромное влияние на функционирование генома могут оказывать те изменения, которые возникают в геноме растений при длительном использовании определенных схем принудительного размножения (Шумный, Похмельных, 1999). В связи с этим было интересно проанализировать соотношения фенотипических классов в последующих поколениях размножения гетерозиготных растений межвидовых гибридов, в частности в F<sub>9</sub> и F<sub>10</sub>. Полученные результаты представлены в табл. 2–4.

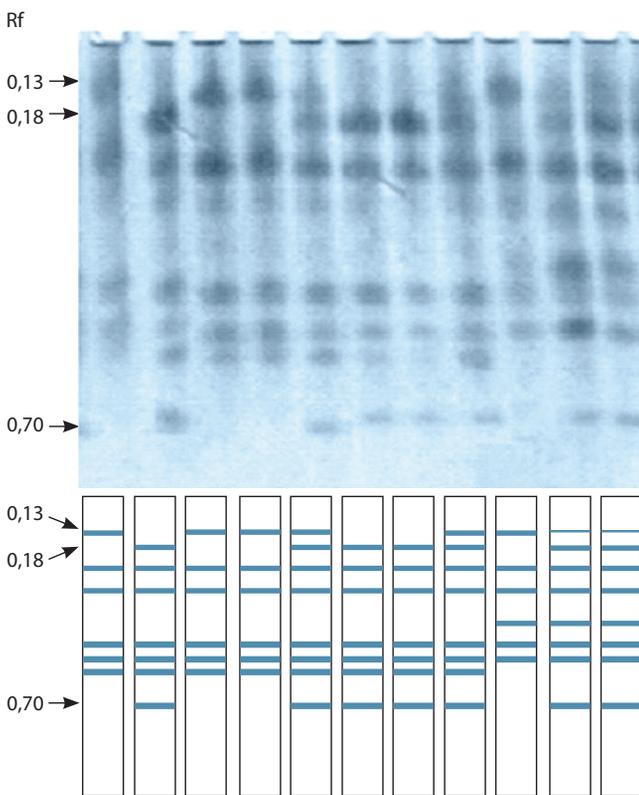
Расщепление в потомствах рецiproкных гибридных гетерозиготных растений девятого поколения по белко-

вым маркерам различное. Из четырех изученных линий гибрида F<sub>9</sub> С-6037 × Карлик две линии дают нормальное и две – аномальное расщепление, а из шести линий гибрида Карлик × С-6037 четыре линии дают нормальное и две – аномальное расщепление (см. табл. 2). Аномальность расщепления заключалась в достоверном смещении в сторону увеличения или уменьшения доли какого-либо гомозиготного фенотипического класса либо в достоверном увеличении или уменьшении доли гетерозиготного класса.

В табл. 3 представлены результаты анализа семенного потомства девятого поколения от трех отдельных гетерозиготных по белковым маркерам растений, отобранных из популяции гетерозигот, дающих аномальное расщепление в потомстве. При этом одно растение дает семенное потом-

**Таблица 4.** Расщепление в потомстве F<sub>10</sub> реципрокных гибридов хлопчатника по наличию в семенах белков Н-0,13 и В-0,18

Линия	Кол-во растений, содержащих белковые маркеры			$\chi^2(1:2:1)$	p
	Н-0,13	Н-0,13 + В-0,18	В-0,18		
F <sub>10</sub> С-6037 × Карлик					
ЛБМ-17	13	39	19	1,704	> 0,05
ЛБМ-18	2	14	4	3,60	> 0,05
F <sub>10</sub> Карлик × С-6037					
ЛБМ-19	42	32	12	26,558	< 0,001
ЛБМ-20	37	75	43	0,626	> 0,05
ЛБМ-21	7	47	11	13,431	< 0,01



Фотография и схема электрофореграммы буферорастворимой фракции белков индивидуальных семян из потомства гетерозиготных растений хлопчатника (F<sub>10</sub> С-6037 × Карлик).

ство с нормальным расщеплением, а два других растения дают потомство с аномальным расщеплением.

Приведенные в табл. 1–3 данные свидетельствуют о том, что отклонения от нормального расщепления проявляются еще на стадии семян и могут быть обусловлены избирательной трансмиссией мужских или женских гамет либо отбором мужских гамет вследствие различной конкурентной способности генетически варибельной пыльцы.

Электрофоретический состав белков семян исследуемых образцов хлопчатника оставался неизменным до десятого поколения. В десятом поколении некоторые гетерозиготные растения давали потомство, в семенах

которых отсутствовал один из белков, а именно: белок с электрофоретической подвижностью 0,70. Образцы, у которых отсутствовал этот белок, принадлежали к фенотипическому классу, содержащему белковый маркер Н-0,13 (см. рисунок).

Утрата белкового компонента Н-0,70 была замечена и в семенах, полученных после нескольких поколений самоопыления растений хлопчатника сорта Ташкент 1. Подобное отклонение наблюдалось с частотой менее 0,1 % (Юнусханов, Ибрагимов, 1988).

В работе Н.Н. Анисимовой и др. (2009) показано, что геном интрогрессивных линий подсолнечника *Helianthus annuus* характеризуется нестабильностью даже после многолетнего инбридинга (в поколениях F<sub>8</sub>–F<sub>12</sub>). Обнаружено изменение характера экспрессии локуса гелиантинина HeIC: у некоторых фенотипов наблюдалось отсутствие одной из субъединиц гелиантинина. Авторы пришли к заключению, что нестабильность генома подсолнечника, проявляющаяся на фенотипических и молекулярных уровнях, может быть обусловлена активностью мобильных генетических элементов.

В десятом поколении межвидовых гибридов также выявлялись аномальные соотношения фенотипических классов. При исследовании расщепления двух гетерозиготных по белковым маркерам линий гибрида F<sub>10</sub> С-6037 × Карлик и трех линий гибрида F<sub>10</sub> Карлик × С-6037 оказалось, что у двух линий гибрида F<sub>10</sub> Карлик × С-6037 наблюдаются отклонения от менделевского расщепления (см. табл. 4). Выявленное аномальное расщепление по белковым маркерам имеет разнонаправленный характер. В одних случаях смещение идет в сторону увеличения или уменьшения генотипов с одним типом белкового маркера, а в других – наблюдаются изменения доли гетерозиготной формы, содержащей оба белковых маркера.

Полученные в данной работе результаты с использованием реципрокных гибридов свидетельствуют о том, что аномальное расщепление потомств по моногенно контролируемым белковым маркерам не является следствием цитоплазматическо-ядерных отношений, поскольку в обоих вариантах смещение расщепления наблюдается с одинаковой вероятностью.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы

- Абзалов М.Ф. Взаимодействие генов у хлопчатника *G. hirsutum* L. Ташкент: Фан, 2008.
- Анисимова И.Н., Туманова Л.Г., Гаврилова В.А., Дягилева А.В., Паша Л.И., Митин В.А., Тимофеева Г.И. Нестабильность генома межвидовых гибридов подсолнечника. Генетика. 2009;45(8): 1067-1077.
- Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев: Наук. думка, 1979.
- Глазко В.И., Созинов М.А. Генетика изоферментов животных и растений. Киев, 1993;420-437.
- Голоенко И.М., Давыденко О.Г. Нарушение менделевского расщепления. Эффекты геномов цитоплазматических органелл. Цитология и генетика. 2005;1:71-81.
- Голоенко И.М., Давыденко О.Г., Шимкевич А.М. Нарушение расщепления маркерных ядерных генов у алло- и изоплазматических линий ячменя. Генетика. 2002;38(7):944-949.
- Левитес Е.В. Генетика изоферментов растений. Новосибирск, 1986.
- Мухамеджанова Д. Наследование признака карликовости у хлопчатника при облучении пыльцы. Генетика и цитозембриология хлопчатника. Ташкент: ФАН, 1979;78-81.
- Фарбер С.П. 12S1-глобулины семян в идентификации сортов капусты. Докл. РАСХН. 1994;5:8-10.
- Шумный В.К., Похмельных Г.А. Гетерохроматические районы хромосом и прогандрия у кукурузы. Генетика. 1999;5:641-649.
- Юнусханов Ш., Абдуразакова З.Л. Изогенные линии по белковым маркерам Н-0,13 и В-0,18 хлопчатника. Узб. биол. журн. 2009; 1:67-71.
- Юнусханов Ш., Абдуразакова З.Л., Курбанбаев И.Д. Использование белковых маркеров для получения изогенных линий хлопчатника. Докл. АН РУз. 2009;1:66-68.
- Юнусханов Ш., Ибрагимов А.П. Выявление белковых маркеров семян хлопчатника видов *G. hirsutum* L. и *G. barbadense* L. и изучение взаимосвязи их наследования с некоторыми признаками. Генетика. 1984;20(6):989-997.
- Юнусханов Ш., Ибрагимов А.П. Белки хлопчатника. Ташкент: Фан, 1988.
- Fryxell P.A. Taxonomy and germplasm resources. (Eds. R.J. Kohel, C.F. Lewis). Cotton. Agron. Ser. 24. Am. Soc. Agron. Madison, WI, 1984;27-57.
- Lazo G.R., Park J., Kohel R.J. Identification of RAPD markers linked to fiber straight in *G. hirsutum* and *G. barbadense* crosses. Biochemistry of cotton workshop, Sept. 28–30, 1994;1-10.
- Maheswaran M., Subudhi P., Nandi S., Xu J.C., Parco A., Yang D.C., Huang N. Polymorphism, distribution, and segregation of AFLP markers in a doubled haploid rice population. Theor. Appl. Genet. 1997;94:39-45.
- Paterson A.H., Lander E.S., Hewitt J.D., Peterson S., Lincoln S.E., Tanksley S.D. Resolution of quantitative trait into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. Nature. 1988;35:721.
- Straub J.T., Serguen F.S., Gupta M. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. Hort Science. 1996;31(5):729-741.
- Ulloa M., Meredith W.R. Jr. Genetic linkage map and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in an interspecific population. J. Cotton Science. 2000;4:161-170.
- Wendel J.F., Brubaker C.L., Percival A.E. Genetic diversity in *Gossypium hirsutum* and the origin of upland cotton. Am. J. Bot. 1992; 79:1291-1310.
- Yamagishi M., Yano M., Fukuta Y., Fukui K., Otani M., Shimada T. Distorted segregation of RFLP markers in regenerated plants derived from anther culture of an F<sub>1</sub> hybrid of rice. Genes and Genet. Syst. 1996;71(1):37-41.