

УДК 633.15

ПАРІЙ Я.Ф., здобувач

Всеукраїнський науковий інститут селекції

ostapparii@gmail.com

Науковий керівник – ЧУГУНKOBA Т.В., д-р біол. наук

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

**ПРОЯВ ЗАБАРВЛЕННЯ АЛЕЙРОНОВОГО ШАРУ
ЗЕРНІВКИ КУКУРУДЗИ (*Zea mays* L.) У ГІБРИДІВ F₁**

Забарвлення зернівки кукурудзи контролюється п'ятьма генами A1, A2, C1, C2 та R1, які взаємодіють за принципом компліментарності. Цю ознаку можна використовувати для контролювання гібридності насіння на ділянках гібридизації, але для практичного застосування в насінництві необхідно вивчити генетичну основу інбредних селекційних ліній за основними генами забарвлення алейронового шару зернівки та ввести їх у елітні лінії.

Тому вивчено генотипи шести селекційних ліній за забарвленням алейронового шару зернівки в схрещуваннях з п'ятьма тестерними лініями з відомими генотипами. Встановлено, що усі проаналізовані інбредні лінії F7 зС, F2 зС, Сg 10 зМ, F 115 зМ, ГК 26 зМ та П 502 МВ мають генотип A1A1A2A2c1c1C2C2гг.

Реципрокних ефектів у різних типах схрещування (інбредна лінія×тестер, тестер×інбредна лінія) не виявлено.

Ключові слова: кукурудза, схрещування, алейроновий шар, комплементарна взаємодія генів.

Постановка проблеми. Для ефективного використання генів, які контролюють морфологічні ознаки, в селекційному процесі та насінництві за виробництва гібридного насіння кукурудзи необхідно всебічно вивчати прояв генів у гібридів першого покоління. Порівнюючи прояв ознаки в системі схрещувань (прямі та зворотні) можна встановити чи мають місце цитоплазматичні ефекти, а також з'ясувати гомозиготні чи гетерозиготні вихідні компоненти схрещування [1]. Для встановлення можливих ефектів та генетичних механізмів у прояві певної ознаки на різних стадіях розвитку рослини потрібно залучати модельні рослинні об'єкти, до яких належить кукурудза (*Zea mays* L.).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Генетика кукурудзи досконало вивчена. Встановлено генетичний контроль морфологічних ознак [2, 3], побудовані детальні генетичні карти [4], а також проводяться широкомасштабні геномні дослідження цього виду [5-8]. Оскільки в насінництві сільськогосподарських культур основним продуктом є насіння, яке реалізується аграрним господарствам, то його якість необхідно контролювати на всіх ланках насінницького процесу. Для цього можна застосовувати різні типи маркерних ознак [9]. Серед яких можна ефективно використовувати в гетерозисній селекції кукурудзи ознаку забарвлення зернівки кукурудзи. Ця ознака варіює від білого до майже чорного і обумовлена дією багатьох генів забарвлення алейронового шару, ендосперму і перикарпію. Генетика цієї ознаки детально вивчена та контролюється п'ятьма генами – A1, A2, C1, C2 та R1, які взаємодіють за принципом компліментарності. Наявність в гомозиготному стані одного чи декількох алелів цих генів у генотипі призводить до відсутності забарвлення алейронового шару зернівки кукурудзи. Цю ознаку можна використовувати для контролювання гібридності насіння на ділянках гібридизації, але для практичного застосування в насінництві необхідно вивчити генетичну основу інбредних селекційних ліній за основними генами забарвлення алейронового шару зернівки та ввести їх у елітні лінії.

Метою роботи було встановити генотипи селекційних ліній кукурудзи за забарвленням алейронового шару зернівки.

Матеріал і методика дослідження. Як вихідний матеріал використовували інбредні селекційні лінії кукурудзи – F7 зС, F2 зС, Сg 10 зМ, F 115 зМ, ГК 26 зМ і П 502 МВ та тестерні лінії – С-74, С-1246, С-513, С-183, С-212. Між селекційними інбредними лініями та тестерами проводили реципрокні схрещування. Тестерні лінії за генотипом були такими: з алелем *a1* було використано зразок С-74 (генотип *a1A2CR*), зернівки незабарвлені; з алелем *a2* – зразок С-1246 (генотип *A1a2CR*), зернівки незабарвлені; з алелем *c1* зразок С-183 (генотип *c1A1A2R*), алейроновий шар незабарвлений; з алелем *c2* – зразок С-513 (генотип *c2A1A2C1R*),

зернівка незабарвлена; з алелем *r* – зразок С-212 (генотип *rA1A2CR*), зернівка з незабарвленим перикарпієм і алейроном.

Для визначення генотипу елітних ліній за алелями генів забарвлення алейронового шару зернівки проводили схрещування із частковими аналізаторами, які мають в рецесивному стані лише один з генів, за якими проводиться вивчення. Використання таких аналізаторів обумовлено тим, що всі гени, які вивчалися, визначають одну ознаку – забарвлення зернівки за комплементарної взаємодії. В кожному схрещуванні аналізували забарвлення не менше 10 качанів кукурудзи. Всього в прямих та зворотних схрещуваннях було отримано 36 гібридних комбінацій.

Фенотиповий прояв генів забарвлення алейронового шару зернівки кукурудзи проводили візуально у фазу повного досягання качанів.

Основні результати дослідження. Для вивчення прояву забарвлення алейронового шару зернівки кукурудзи було проведено серію прямих схрещувань між тестерними лініями та інбредними селекційними лініями. Усі селекційні лінії за фенотипом мали класичне жовте забарвлення зернівки, але генотип цих ліній невідомий. Тестерні лінії кукурудзи були підібрані з чітким фенотиповим проявом досліджуваної ознаки та мали в своєму генотипі одну пару рецесивних алелів з п'яти генів, які контролюють забарвлення алейронового шару зернівки, а решту алелів – у гомозиготному стані. На першому етапі досліджень проаналізували гібриди, під час створення яких був залучений як материнський компонент схрещування тестерні лінії, а батьківський компонент – селекційні інбредні лінії. Гібридні зернівки, які сформувалися на зразку С-183 (генотип *A1A1A2A2c1c1C2C2RR*) за схрещування із лініями П 502 МВ, F7 зС, F2 зС, Сg 10 зМ, F 115 зМ та ГК 26 зМ мали світле забарвлення алейронового шару (табл. 1). Це свідчить про те, що у цих ліній немає в генотипі домінантного алеля гена *C1*. За наявності в генотипі домінантного алеля гена *C1*, гібридні зернівки мали б темне забарвлення, яке обумовлене комплементарною взаємодією основних п'яти генів забарвлення алейронового шару зернівки. За схрещування зі зразком С-212 (генотип *A1A1A2A2C1C1C2 C2 rr*) також спостерігалось світле забарвлення гібридних зернівок. Це свідчило про те, що в лініях П 502 МВ, F2 зС, Сg 10 зМ, F 115 зМ, ГК 26 зМ немає домінантного алеля гена *R*. У зв'язку з тим, що решта основних генів забарвлення зернівки в зразку-аналізаторі знаходиться в гомозиготному домінантному стані, то прояв генів забарвлення зернівки залежить від алельного складу гена *R* і за наявності в генотипі елітних ліній домінантного алеля *R*, алейроновий шар мав би темне забарвлення. За схрещування зі зразком С-74 (генотип *a1A2CR*) спостерігали темно-фіолетове забарвлення зернівок. Це свідчило про наявність в генотипі цих ліній домінантного алеля гена *A1*. Гібридні зернівки мали в домінантному стані всі п'ять основних генів забарвлення зернівки, при цьому домінантний алель гена *A1* походив із ліній, тому що у зразку-аналізаторі були наявні лише рецесивні алелі цього гена.

Таблиця 1 – Забарвлення гібридних зернівок, які отримано в системі схрещувань тестер × інбредна лінія

Тестер	Інбредна лінія					
	F7 зС	F2 зС	Сg 10 зМ	F 115 зМ	ГК 26 зМ	П 502 МВ
С-74 (<i>a1A2C1C2R</i>)	Темно-фіолетове					
С-1246 (<i>A1a2C1C2R</i>)						
С-513 (<i>A1A2C1c2R</i>)	Світло-фіолетове					
С-183 (<i>A1A2c1C2R</i>)	Світле					
С-212 (<i>A1A2C1C2r</i>)						

У системі схрещувань інбредна лінія×тестер було отримано 18 гібридних комбінацій першого покоління. Зернівки, отримані на материнських рослинах, за візуальної оцінки можна було розділити на дві великі групи (табл. 2). Перша група зернівок за фенотипом мала різномані-

тне крапчасте забарвлення від майже повністю фіолетових з проміжними крапчастими формами до майже повністю світлих із невеликою кількістю темних ділянок на верхівці зернівки. Інтенсивність забарвлення та співвідношення світлих і темних ділянок зменшувалося від верхівки до основи зернівки. В цілому цю групу гібридних зернівок ми описали за фенотипом як темно-крапчасті. На нашу думку, такий прояв забарвлення обумовлений впливом дози гена *R*. У схрещуваннях інбредна лінія×тестер алейрон гібридних зернівок мав одну дозу домінантного алеля і дві дози рецесивного алеля гена *R*, і саме такий генотип зумовлює крапчасте забарвлення. Такий тип забарвлення отриманий в схрещуваннях, де за батьківський компонент було взято наступні тестери: С-74 (*a1A2C1C2R*), С-1246 (*A1a2 C1C2R*) та С-513(*A1A2C1c2R*).

Друга група гібридних зернівок кукурудзи за забарвленням алейронового шару була світлою. Світлі гібридні зернівки були отримані за участю двох тестерів С-183 та С-212, які за генотипом є *A1A2c1C2R* та *A1A2C1C2r*, відповідно.

Таблиця 2 – Забарвлення гібридних зернівок, які отримано в системі схрещувань інбредна лінія × тестер

Інбредна лінія	Тестер				
	С-74 (<i>a1A2C1C2R</i>)	С-1246 (<i>A1a2C1C2R</i>)	С-513 (<i>A1A2C1c2R</i>)	С-183 (<i>A1A2c1C2R</i>)	С-212 (<i>A1A2C1C2r</i>)
F7 зС	Темно-крапчасте			Світле	
F2 зС					
Сg 10 зМ					
F 115 зМ					
ГК 26 зМ					
П 502 МВ					

Порівняння результатів прояву забарвлення алейронового шару зернівки кукурудзи в різних типах схрещування – інбредна лінія×тестер (попередня робота) та тестер×інбредна лінія показало, що реципрокних ефектів не було виявлено, тобто незалежно від напрямку схрещування в одній і тій самій комбінації схрещування було виявлено однаковий прояв ознаки. Так, в прямих та зворотних схрещуваннях за участю тестерних ліній кукурудзи з генотипом *A1A2c1C2R* (лінія С-183) та *A1A2C1C2r* (лінія С-212) спостерігали у фенотипі однаковий ефект генів – гібридні зернівки мали світле забарвлення.

Висновки. Комплексне дослідження забарвлення алейрону зернівок кукурудзи, які були отримані в прямих та зворотних схрещуваннях, дозволило встановити генотипи інбредних селекційних ліній. Лінії F7 зС, F2 зС, Сg 10 зМ, F 115 зМ, ГК 26 зМ та П 502 МВ мають такий генотип *A1A1A2A2c1c1C2C2rr*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Голоенко И.М. Нарушения менделевского расщепления. Эффекты геномов цитоплазматических органелл / И.М. Голоенко, О.Г. Давыденко // Цитология и генетика. – 2005. – №1. – С.71-81.
2. <http://www.maizegdb.org>
3. Шмараев Г.Е. Генотип и селекция кукурузы / Г.Е. Шмараев. – СПб: Наука, 1999. – 390 с.
4. Волкова Н.Е. Технология генотипирования KASP та її використання в генетико-селекційних програмах (на прикладі кукурудзи) / Н.Е. Волкова, В.М. Соколов // Сортовивчення та охорона прав на сорти. – 2017. – Т.13, №2. – С.131-140.
5. Chakradhar T. Genomic-based-breeding tools for tropical maize improvement / T. Chakradhar, V. Hindu, P.S. Reddy // *Genetica*. –2017. – V.145 (6). – P. 525-539.
6. Evolution of anthocyanin biosynthesis in maize kernels: the role of regulatory and enzymatic loci / M.A. Hanson, B.S. Gaut, A.O. Stec et al. // *Genetics*. – 1996. – V.143 (3). – P. 1395-407.
7. Mapping of a major QTL for salt tolerance of mature field-grown maize plants based on SNP markers / M. Luo, Y. Zhao, R. Zhang et al. // *BMC Plant Biol.* – 2017. – V. 15; 17 (1). – 140 p.
8. Prasanna B.M. Diversity in global maize germplasm: characterization and utilization / B.M. Prasanna // *J Biosci.* – 2012. – V. 37 (5). – P. 843-855.
9. Лухтанов В.А. Молекулярно-генетические и цитогенетические подходы к проблемам видовой диагностики, систематики и филогенетики / В.А. Лухтанов, В.Г. Кузнецова // *Журнал общей биологии*. – 2009. – Т.70, №5. – С.415-437.

REFERENCES

1. Goloenko, I.M., Davydenko, O.G. Narusheniya mendeljevskogo rassheplenija. Jeffekty genomov citoplazmaticheskikh organell [Disturbance of Mendelian segregation. Effects of cytoplasmic organelle genomes]. *Citologija i genetika* [Cytology and Genetics], 2005, no.1, pp. 71-81.

2. Retrieved from <http://www.maizegdb.org>
3. Shmaraev, G.E. (1999). Genofond i selekcija kukuruzy [Gene pool and breeding of maize]. St. Petersburg, Science, 390 p.
4. Volkova, N.E., Sokolov, V.M. Tehnologija genotipuvannja KASP ta i'i vikoristannja v genetiko-selekcijnih programah (na prikladi kukurudzi) [KASP™ genotyping technology and its use in genetic-breeding programs (a study of maize)]. Sortovivchennja ta ohorona prav na sorti [Plant varieties studying and protection], 2017, vol.13, no. 2, pp. 131-140.
5. Chakradhar, T., Hindu, V., Reddy, P.S. Genomic-based-breeding tools for tropical maize improvement. *Genetica*, 2017, vol. 145 (6), pp. 525-539.
6. Hanson, M.A, Gaut, B.S, Stec, A.O, Fuerstenberg, S.I, Goodman, M.M, Coe, E.H., Doebley, J.F. Evolution of anthocyanin biosynthesis in maize kernels: the role of regulatory and enzymatic loci. *Genetics*, 1996, vol. 143 (3), pp. 1395-1407.
7. Luo, M., Zhao, Y., Zhang, R., Xing, J., Duan, M., Li, J., Wang, N., Wang, W., Zhang, S., Chen, Z., Zhang, H., Shi, Z., Song, W., Zhao, J. Mapping of a major QTL for salt tolerance of mature field-grown maize plants based on SNP markers. *BMC Plant Biol.*, 2017, vol. 15, no. 17 (1), 140 p.
8. Prasanna, B.M. Diversity in global maize germplasm: characterization and utilization. *J Biosci.*, 2012, vol. 37 (5), pp. 843-855.
9. Luhtanov, V.A., Kuznecova, V.G. Molekuljarno-geneticheskie i citogeneicheskie podhody k problemam vidovoj diagnostiki, sistematiki i filogenetiki [Molecular and cytogenetic approaches to species diagnostics, systematics, and phylogenetics]. *Zhurnal obshhej biologii [Biology Bulletin Reviews]*, 2009, vol. 70, no. 5, pp. 415-437.

**Проявление окраски алейронового слоя зерновки кукурузы (*Zea mays* L.) у гибридов F₁
Я.Ф. Парий**

Окраска зерновки кукурузы контролируется пятью генами A1, A2, C1, C2 и R1, которые взаимодействуют по принципу комплементарности. Этот признак можна использовать для контроля гибридности семян на участках гибридизации, но для практического использования в семеноведении необходимо изучить генетическую основу инбредных селекционных линий по основным генам окраски алейронового слоя и ввести их в элитные линии.

Поэтому изучено генотипы селекционных линий по окраске алейронового слоя зерновки в скрещиваниях с тестерными линиями с известными генотипами. Установлено, что инбредные линии F7 зС, F2 зС, Cg 10 зМ, F 115 зМ, ГК 26 зМ и П 502 МВ имеют генотип A1A1A2A2c1c1 C2C2г.

Реципрокных эффектов в разных типах скрещивания (инбредная линия×тестер, тестер×инбредная линия) не выявлено.

Ключевые слова: кукуруза, скрещивания, алейроновый слой, комплементарное взаимодействие генов.

**Display of aleurone layer color of corn grain (*Zea mays* L.) in F₁ hybrids
Ya. Parii**

Seed quality must be monitored at all stages of the seed process since it is the main product in seed production of agricultural crops sold to agricultural holdings. Different types of marker signs can be widely used to control the quality of the seeds obtained. Among the marker signs that can be effectively used in heterozygous corn selection, one can distinguish the characteristics of corn grain coloring. This feature varies from white to almost black and is due to the action of many genes in the coloration of the aleurone layer, endosperm and pericarp. The corn seed color is controlled by five A1, A2, C1, C2 and R1 genes that interact according to the principle of complementarity. This trait can be used to control the hybridity of seeds in hybridization sites, but for practical application in seedling it is necessary to study the genetic basis of inbred breeding lines for the main genes of the coloration of the aleuronic layer of grains and enter them in elite lines.

As input material, inbred breeding lines of corn were used: F7, C, F2, C, Cg 10, M, F 115, M, MG 26, M, and P 502 MW, and test strips C-74, C-124b, C-513, C-183, P-212. Between selection inbred lines and tester reciprocal crossings were performed. The test lines by genotype were as follows: the sample of C-74 (genotype a1A2CR) was used with the allele a1; the grains were not colored; with allele a2 – sample C-124b (genotype A1a2CR), grains unpanched; with an allele c1 sample C-183 (genotype c1A1A2R), the aleuronic layer is uncolored; with an allele c2 – a sample of C-513 (genotype c2A1A2C1R), a grain of uncolored; with allele r – sample C-212 (genotype rA1A2CR), grains with uncolored pericarp and alyuron.

The phenotypic manifestation of the genes of the coloration of the aleuronic layer of maize corn was conducted visually in the phase of full reaching of the cobs.

The test corn lines were selected with a clear phenotypic manifestation of the studied trait and had in their genotype one pair of recessive alleles from five genes that controlled the color of the aleuronic layer of the corn, and the remaining alleles – in a homozygous state. In the first phase of the research, we analyzed hybrids, the creation of which was involved as a parent component of crossing the test line, and the parent component – breeding inbred lines.

Comparison of the results of the coloration of the aleuronic layer of maize corn in different types of crossing – the inbred line × tester (preliminary work) and the tester × inbred line showed that the reciprocal effects were not detected, that is, regardless of the direction of crossing in the same combination of crosses, the same manifestation of a sign. For example, in direct and reciprocal crossings involving corn test lines with genotype A1A2c1C2R (line C-183) and A1A2C1C2r (line C-212), we observed in the phenotype the same effect of genes – hybrid grains had a bright color.

Therefore, we studied the genotypes of six breeding lines by coloring the aleuronic layer of grain in crosses with five test lines with known genotypes. It has been established that all analyzed inbred lines F7 cC, F2 cC, Cg 10 cM, F 115 cM, GK 26 cM and P 502 MB have the genotype A1A1A2A2c1c1C2C2rr.

Key words: corn, crossings, aleurone layer, complementary interaction of genes.

Надійшла 12.10.2017 р.