

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЙ АСПЕКТ ЯВЛЕНИЯ ГЕТЕРОЗИСА
У ОГУРЦА *Cucumis sativus* L.**

Татьяна ХОМЕНКО, Мария ДУКА, Анжела ПОРТ, Людмила Гусева*, Доган ОЗДЕМИР

Кафедра биологии растений

**НИИОЗиО, г. Тирасполь*

În lucrare sunt generalizate datele privind studiul fenomenului de heterozis la diverse genotipuri de castraveți (*Cucumis sativus* L.): formele parentale și hibridii primei generații. Rezultatele relevă legătura dintre unii parametri fiziologo-biochimici, cum sunt conținutul proteinelor sumare, activitatea catalazei și conținutul acizilor nucleici (AND și ARN) cu heterozisul. Acești parametri biochimici și moleculari pot prognoza heterozisul la etapele timpurii în dezvoltarea ontogenetică a plantelor.

The present paper is concerned with the study of heterosis at various hybrid genotypes of cucumber (*Cucumis sativus* L.). The results revealed the relation between some physiologo-biochemical parameters like content of total proteins, catalase activity and content of nucleic acids (DNA and RNA) with heterosis. These biochemical and molecular parameters can forecast the heterosis at early stages of plants ontogenetic development.

Проблема гетерозиса вызывает интерес у исследователей своей уникальностью. Установлено, что гетерозисный эффект многих сельскохозяйственных культур наблюдается у гибридов первого поколения по продуктивности; такие гибриды отличаются сильным ростом, мощным развитием, интенсивностью метаболических процессов и т.д.

Наиболее перспективным является физиолого-биохимический подход к решению этой проблемы на основе достижений молекулярной биологии. Маркирование биологических свойств и хозяйственных признаков растения – одна из главных практических задач, к решению которых должна стремиться биохимическая и молекулярная генетика как теоретическая основа современной селекции. При этом особенно ценными должны быть сведения о структуре и функциональной активности генома и плазмона гетерозисных гибридов и их родительских форм. Сложилось несколько подходов к оценке структурного и функционального состояния генома и его элементарных систем. Известно, что гетерозис проявляется на всех уровнях метаболизма и морфогенеза. Биохимия и молекулярная биология позволяют продемонстрировать это достаточно конкретно и убедительно [10].

Впервые об этой фундаментальной проблеме заявил Н.И.Вавилов (1920, 1932). Он считал (цит. по Конареву В., [14]), что селекция должна основываться не на отдельных фрагментах вида, а на виде в целом как на сложной системе, на всем его генофонде.

Для объяснения механизмов гетерозиса и инбредной депрессии выдвинут ряд гипотез, которые обсуждаются на протяжении уже нескольких десятилетий (Дубинин, 1967 [6]; Кирпичников, [9]; Мас Кей, [3]). Наиболее популярны из них гипотезы о сочетании благоприятных доминантных факторов, сверхдоминировании и генетическом балансе.

Надежными критериями генома и диплоидного вида оказались белковые признаки. Это легло в основу разработок принципа и методов маркирования белками генома как системы видовой категории. Особое значение здесь приобретают методы быстрой и точной идентификации генома и геномного анализа исходного селекционного материала. Решающая роль в этом будет принадлежать белковым и другим маркерам [11,13], маркирующим короткие фрагменты генома в месте их расположения, что и позволяет исследовать такие сложные интегральные признаки, как адаптивность и продуктивность [16].

К настоящему времени по белкам-маркерам Конаревым В.Г. и др. [14, 15] осуществлен геномный анализ основных видов культурных растений и их диких сородичей и выявлены природа и происхождение геномов, определены геномные составы в полиплоидных комплексах пшеницы, картофеля, злаковых трав, овощных крестоцветных, плодовых косточковых и др. [14].

Новым этапом в дальнейшем совершенствовании технологии гетерозисной селекции станет внедрение методов, основанных на применении ДНК-маркеров [12].

В соответствии с вышесказанным, целью исследования явилось изучение качественного состава общих белков, белков-ферментов (каталазы) и нуклеиновых кислот у гибридных комбинаций и родительских форм огуречного растения в связи с селекцией на гетерозис для выявления маркеров гетерозиса.

Методика

Материалом для исследований служили различные родительские линии (материнские и отцовские) огурца *Cucumis sativus* L. и их гетерозисные гибриды первого поколения, предоставленные лабораторией селекции НИИ орошаемого земледелия и овощеводства (г. Тирасполь).

Изучались пять исходных материнских форм огурца, три отцовских линии (из них районированные сорта – *Береговой* и *Фаворит*) и семь гибридов первого поколения (F_1), из которых первые три ($H 273$, $H 274$ и $H 275$) обладали высокой продуктивностью, а гибриды $H 6$ и $H 7$ – низкой. Контролем служили районированные гибриды первого поколения F_1 *Взгляд* и F_1 *Эпилог* (табл.1).

Таблица 1**Генотипическая структура исследуемых гибридов *Cucumis sativus***

Родительская форма	Гибриды с высокой продуктивностью			Контроль		Гибриды с низкой продуктивностью	
	H 275	H 274	H 273	Взгляд	Эпилог	H 6	H 7
Материнские формы ♀	Л 226	Л 203	Л 222	Л 371	Л 371	Л 222	Л 222
Отцовские формы ♂	Л 203	Л 216	Л 203	Береговой	Фаворит	Береговой	Фаворит

Анализировались растения огурца в фазе 3-х настоящих листьев.

Для определения суммарного белка, активности каталазы и нуклеиновых кислот применялись известные методы, апробированные на кафедре биологии растений [1, 2]. Математическая обработка экспериментальных данных проводилась стандартными методами [7]. Повторность трехкратная.

Результаты и обсуждение

Собран и обработан экспериментальный материал, характеризующий некоторые гибридные комбинации *Cucumis sativus* L. различной продуктивности и их родительские формы на эффект гетерозиса по некоторым физиолого-биохимическим показателям.

Для установления закономерностей между содержанием белка и эффектом гетерозиса, определяли содержание суммарного белка в растениях огурца *Cucumis sativus* L. на стадии 3-х настоящих листьев. Для удобства выявления закономерностей наследования изучаемых признаков данные по линиям и гибридам группировались по 3-м комбинациям: материнская линия, отцовская линия, гибрид.

Как видно из таблицы 2, родительские формы и гибриды огурца по содержанию суммарного белка варьируют в пределах от 119,17 до 210,83 мг/г (табл. 2).

Первые пять гибридов, линии которых обладают высокой комбинационной способностью, существенно превосходят по содержанию суммарного белка родительские формы и показывают высокий процент гетерозиса как по сравнению со средним показателем исходных родительских форм (от 13% до 42%), так и по сравнению с максимальным показателем одной из родительских форм (от 7% до 36%). Максимальный показатель гетерозисного эффекта – у гибрида F_1 *Эпилог*: он составляет 42% по сравнению со средним показателем исходных родительских форм.

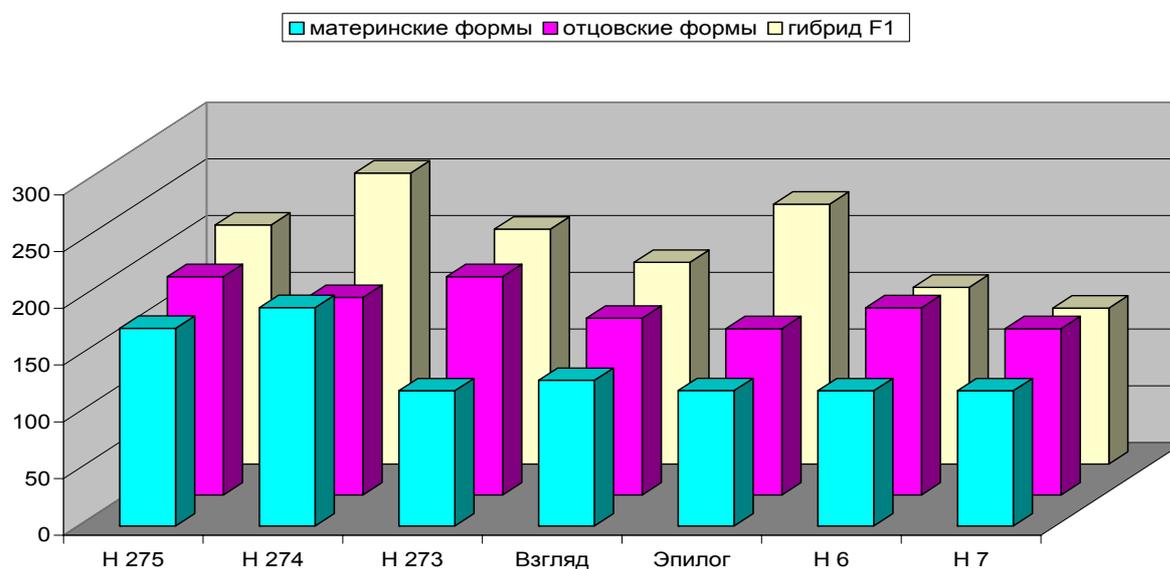
Таблица 2**Содержание суммарного белка у *Cucumis sativus* L.**

Название комбинации	$X \pm m_x$ (мг/г)	% гетерозиса по сравнению со средним родителем	% гетерозиса по сравнению с лучшим родителем
<i>H 275</i>	210,83±1,02	13,04	8,69
♀ L 226	174,17±2,84		
♂ L 203	192,5±2,92		

<i>H</i> 274	256,67±3,21	28,57	25,0
♀ L 203	192,5±2,92		
♂ L 216	174,17±2,84		
<i>H</i> 273	207,17±2,84	24,78	7,08
♀ L 222	119,17±1,8		
♂ L 203	192,5±2,92		
Взгляд	177,89 ± 2,01	23,00	12,40
♀ L 371	119,33±1,97		
♂ Береговой	155,83±2,59		
Эпилог	229,17±1,54	42,00	36,00
♀ L 371	119,33±1,97		
♂ Фаворит	146,67±2,01		
<i>H</i> 6	155,83±2,59	12,00	0
♀ L 222	119,17±1,8		
♂ Береговой	165,12 ± 2,71		
<i>H</i> 7	137,5±2,01	3,30	-6,67
♀ L 222	119,17±1,8		
♂ Фаворит	146,67±2,56		

Гибриды, линии которых обладают низкой комбинационной способностью (*H* 6 и *H* 7), показали небольшой положительный гетерозисный эффект по сравнению со средним показателем исходных родительских форм и отрицательный гетерозис по сравнению с максимальным показателем одной из родительских форм.

Данные о содержании суммарного белка в растениях изученных линий и гибридов представлены на гистограмме 1.



Гистограмма 1. Содержание суммарного белка у *Cucumis sativus* L., (мг/г)

Закономерности наследования содержания суммарного белка в растениях огурца показывают, что некоторые материнские линии при скрещивании с различными отцовскими линиями дают положительный гетерозисный эффект, величина которого зависит, по-видимому, лишь от материнской линии. Так, Линия 203, включенная в гибрид *H* 275 и гибрид *H* 273 в качестве отцовской линии, оказывает

меньшее влияние на процент гетерозиса, нежели эта же линия, выступающая в качестве материнской формы у гибрида *H 274* (дает до 30% гетерозисного эффекта).

Линия 371, включенная в качестве материнской в контрольные гибриды *F₁ Взгляд* и *F₁ Эпилог*, дает высокий процент гетерозиса – от 13% до 42%.

Отцовская родительская форма *Фаворит* в гибриде *F₁ Эпилог* определяет высокий процент гетерозиса, на который, по-видимому, оказала значительное влияние материнская форма Л.371, т.к. в гибриде *H 7* – низкий и даже отрицательный процент гетерозиса (от 3% и до -6,7%).

Анализ литературных данных [4] позволяет предположить, что активация синтеза белка у гибридов по сравнению с исходными родительскими формами – один из механизмов, обеспечивающих на молекулярном уровне проявление гетерозисного эффекта.

Гилязетдинов Ш.Я. и Вахитов В.А. [5] предположили, что наблюдаемое ими превосходство высокогетерозисных гибридов по активности трансляционного аппарата может показаться следствием сверхдоминирования. Однако в действительности, как рассуждают авторы, – это комплементарное взаимодействие неаллельных генов. Способность гибридов и их родительских форм синтезировать белок с той или иной скоростью следует рассматривать, безусловно, как сложный процесс, так как трансляционный аппарат является многокомпонентным, а синтез белка – многоступенчатым [8].

Направленность и интенсивность процессов обмена веществ обусловливается активностью ферментных систем. Биохимии гетерозиса в этом плане посвящено множество исследований. При изучении активности оксидоредуктаз и трансфераз у растений гетерозисных гибридов было установлено, что активность ферментов у них занимает или промежуточное положение между парами, или уступает им [4].

Ферменты как биологические катализаторы участвуют во всех процессах жизнедеятельности растительной клетки, поэтому можно предположить, что гетерозисный эффект у гибридов связан прежде всего с направленностью в деятельности ферментов и их активностью. Однако существующие литературные данные относительно активности ферментов у гетерозисных гибридов и самоопыляемых линий противоречивы. Не обнаружено корреляции между проявлением гетерозиса и активностью каталазы, но в исследованиях Д.И.Семеновой установлено, что линии с высокой комбинационной способностью отличаются более высокой восстанавливающей активностью тканей [4].

Нами исследовалась активность каталазы в связи с гетерозисным эффектом на стадии 3-х настоящих листьев у *Cucumis sativus L.* Гетерозисный эффект гибридов, линии которых обладают высокой комбинационной способностью, по активности каталазы в растениях огурца изменяется незначительно, практически все гибриды (кроме *H 273*) показывают положительный гетерозис (табл. 3).

Таблица 3

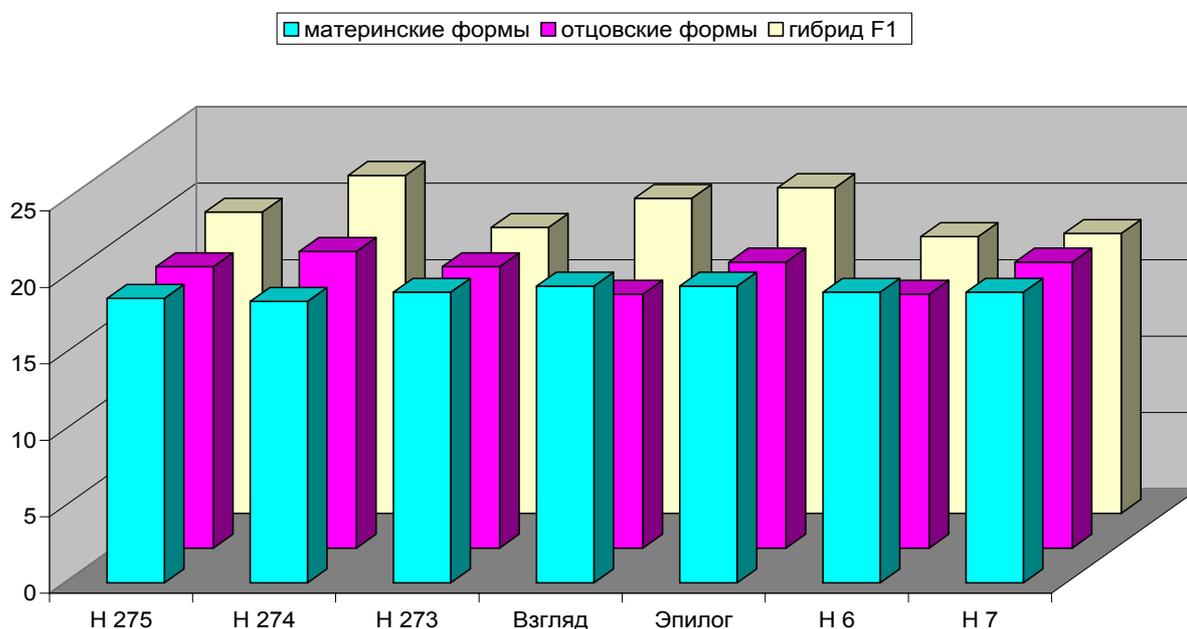
Определение активности каталазы у *Cucumis sativus L.*

Название комбинации	X ± m _x (млО ₂ /1г/1мин)	% гетерозиса по сравнению со средним родителем	% гетерозиса по сравнению с лучшим родителем
<i>H 275</i>	19,7±0,97	6,09	5,58
♀ L 226	18,6±0,76		
♂ L 203	18,4±0,86		
<i>H 274</i>	22,1±0,24	14,50	11,00
♀ L 203	18,4±0,86		
♂ L 216	19,4±0,86		
<i>H 273</i>	18,7±0,27	0	-1,02
♀ L 222	19,0±0,75		
♂ L 203	18,4±0,86		
Взгляд	20,6±0,18	16,70	6,00
♀ L 371	20,1±0,24		
♂ Береговой	19,4±0,86		
Эпилог	21,3±0,09	10,56	8,92
♀ L 371	20,1±0,24		
♂ Фаворит	18,7±0,71		

	H 6	18,1±0,71	-5,00	-5,00
♀	L 222	19,0±0,75		
♂	Береговой	19,4±0,86		
	H 7	18,3±0,09	3,01	-3,83
♀	L 222	19,0±0,75		
♂	Фаворит	18,7±0,71		

Незначительно выделяется высокопродуктивный партенокарпный гибрид *H 274*, родительские линии которого показывают 14,5% гетерозисного эффекта по сравнению со средним родителем и 11% по сравнению с лучшим показателем одной из родительских форм. Гибриды *H 6* и *H 7* с низкой продуктивностью не показали гетерозисного эффекта (табл.3).

Гистограмма 2 демонстрирует изменение активности каталазы у гибридов первого поколения и их родительских форм в растениях у *Cucumis sativus L.*



Гистограмма 2. Активность каталазы у *Cucumis sativus L.* (млO₂/1г/1мин.)

Проблему связи нуклеиновых кислот с гетерозисом изучают многие исследователи [4]. Некоторые авторы показали прямую зависимость между относительным содержанием нуклеиновых кислот и проявлением гетерозиса. В опытах А.Ф.Серединской установлено заметное превосходство гибридных растений по содержанию нуклеиновых кислот, в особенности РНК, в листьях томатов. В семенах гибридов огурцов и их родительских форм изучалось относительное содержание нуклеиновых кислот (Белин, Корнер, 1968). Оказалось, что гибриды, семена которых имели повышенное содержание нуклеиновых кислот, проявляли гетерозис и по урожайности [4].

Многими авторами [5] обнаружено, что родительские формы гетерозисных гибридов различаются по интенсивности синтеза рибосомальных и нерибосомальных РНК.

Шахбазовым В.Г. [17] и Шестопаловой Н.Г. [18] обнаружена повышенная активность ядрышкового аппарата в клетках гетерозисных гибридов растений.

Результаты наших исследований также свидетельствуют, что у большинства гибридов, линии которых обладают высокой комбинационной способностью, наблюдается гетерозисный эффект. Так, данные таблицы 4 показывают, что по содержанию ДНК в огуречном растении на стадии 3-х настоящих листьев у изучаемых гибридов обнаружен высокий процент гетерозиса (от 16,67% до 66,67%) по сравнению со средним показателем исходных родительских форм (табл. 4).

Таблица 4

Содержание ДНК и РНК у *Cucumis sativus* L.

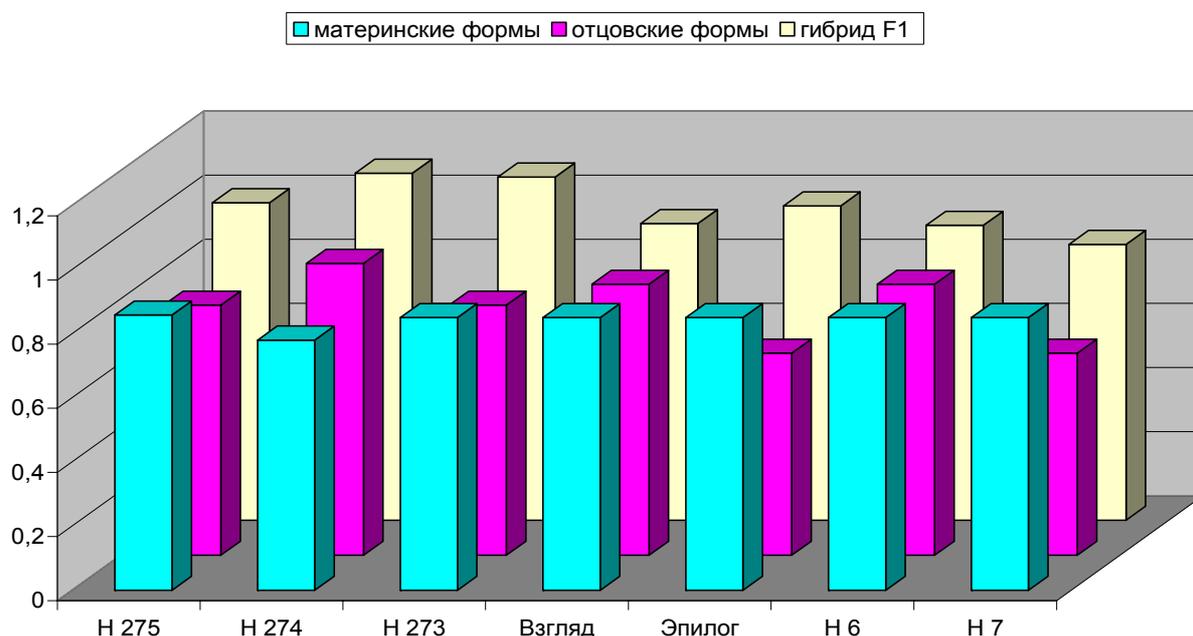
Название комбинации	ДНК $X \pm m_x$ (мг/г)	% гетерозиса по сравнению со средним родителем	% гетерозиса по сравнению с лучшим родителем	РНК $X \pm m_x$ (мг/г)	% гетерозиса по сравнению со средним родителем	% гетерозиса по сравнению с лучшим родителем
H 275	0,12 ± 0,008	66,67	58,33	0,87 ± 0,02	10,92	5,70
♀ L 226	0,03±0,007			0,83±0,01		
♂ L 203	0,05±0,001			0,72±0,08		
H 274	0,08 ± 0,001	25,00	12,50	1,00 ± 0,02	22,00	16,00
♀ L 203	0,05±0,001			0,72±0,08		
♂ L 216	0,07±0,002			0,84±0,12		
H 273	0,06 ± 0,002	16,67	16,67	1,01 ± 0,03	25,25	21,78
♀ L 222	0,05±0,001			0,79±0,02		
♂ L 203	0,05±0,001			0,72±0,08		
Взгляд	0,07 ± 0,002	50,00	28,57	0,86 ± 0,02	5,81	4,65
♀ L 371	0,05 ± 0,001			0,80 ± 0,06		
♂ Береговой	0,02±0,001			0,82±0,07		
Эпилог	0,06± 0,001	25,00	16,67	0,92± 0,03	24,46	13,04
♀ L 371	0,05 ± 0,001			0,80 ± 0,06		
♂ Фаворит	0,04 ± 0,001			0,59 ± 0,01		
H 6	0,06 ± 0,002	41,67	16,67	0,86 ± 0,01	6,40	4,65
♀ L 222	0,05 ± 0,001			0,79 ± 0,02		
♂ Береговой	0,02 ± 0,001			0,82 ± 0,07		
H 7	0,05±0,001	10,00	0	0,81±0,02	14,81	2,47
♀ L 222	0,05±0,001			0,79±0,02		
♂ Фаворит	0,04±0,001			0,59±0,01		

Обнаружен также высокий гетерозисный эффект и по сравнению с максимальным показателем одной из родительских форм (от 12,5% и до 58,3%). Максимальный эффект гетерозиса наблюдается для гибрида H 275 и составляет 66,7% и 58,3% соответственно.

По содержанию РНК в огуречном растении на стадии 3-х настоящих листьев у изучаемых гибридов наблюдается положительный гетерозисный эффект у всех гибридных комбинаций, однако более высокий эффект отмечен у гибридов H 274, H 273 и F₁ Эпилог.

Заметно, что высокий процент гетерозиса наблюдается в тех комбинациях гибридов, родительские формы которых значительно отличаются друг от друга по содержанию нуклеиновых кислот.

Суммарная величина ДНК и РНК показала аналогичную закономерность, которую можно проследить на гистограмме 3.



Гистограмма 3. Содержание нуклеиновых кислот у *Cucumis sativus* L. (мг/г)

Наглядно представлен максимальный гетерозисный эффект у гибридов *H 273* и *F1Эпилог*.

Существенных различий между гибридом и материнской формой по содержанию РНК не обнаруживается. Однако суммарное содержание ДНК и РНК у большинства гибридных комбинаций выше, чем у материнской формы (табл. 5). Это согласуется с литературными данными [5]: гибриды превосходят родительские формы по темпам накопления РНК в вегетативных органах.

Таблица 5

Содержание нуклеиновых кислот у *Cucumis sativus* L.

Название комбинации	$X \pm m_x$ (мг/г)	% гетерозиса по сравнению со средним родителем	% гетерозиса по сравнению с лучшим родителем
<i>H 275</i>	0,99±0,08	17,17	13,13
♀ L 226	0,858±0,07		
♂ L 203	0,78±0,07		
<i>H 274</i>	1,082±0,09	22,00	14,81
♀ L 203	0,78±0,07		
♂ L 216	0,91±0,07		
<i>H 273</i>	1,07±0,09	24,00	20,56
♀ L 222	0,85±0,08		
♂ L 203	0,78±0,07		
Взгляд	0,925±0,09	8,11	8,60
♀ L 371	0,85±0,08		
♂ Береговой	0,845±0,07		
Эпилог	0,98±0,09	24,49	13,27
♀ L 371	0,8±0,08		
♂ Фаворит	0,63±0,07		
<i>H 6</i>	0,92±0,08	8,70	8,70
♀ L 222	0,84±0,08		
♂ Береговой	0,845±0,07		

H 7	0,86±0,06	14,53	2,33
♀ L 222	0,84±0,08		
♂ Фаворит	0,63±0,07		

Из вышеизложенного можно предположить, что превосходство гетерозисных гибридов, линии которых обладают высокой комбинационной способностью, по содержанию ДНК и РНК на стадии 3-х настоящих листьев объясняется высокой интенсивностью процессов роста и развития на начальных этапах онтогенеза растений.

Следует отметить, что, возможно, явления гетерозиса у растений огурца обусловлены разными звеньями механизмов экспрессии генов, и поэтому особенности, связанные с определенным содержанием нуклеиновых кислот в гибридных комбинациях, можно рассматривать лишь как одну из важных, но не единственных причин этих явлений.

Выводы

Обобщая полученные результаты по изменчивости некоторых физиолого-биохимических показателей у различных генотипов огурца *Cucumis sativus* L., можно выделить определенные закономерности между изученными признаками и явлением гетерозиса, которые помогут в дальнейшем быстрому прогнозированию гетерозиса у растений на ранних этапах онтогенеза.

Литература:

1. Duca M., Savca E. Fiziologia și biochimia plantelor. Practicum pentru studenții facultății de biologie și pedologie. - Chișinău, 1997, p.87.
2. Reva V., Ciobanu V., Muller-Uri F. Strategia și tactica izolării și purificării proteinelor. - Chișinău, 2001, p.184.
3. Mac Key J. Seed dormancy in nature and agriculture // Cereal Res. Commun. - 1976. - Vol.4. - No2. - P.83-91.
4. Али-Зади, Мисур А.М., Алиев Р.Т. Гетерозис и нуклеиновые кислоты. - Баку: Элм, 1982, с.129.
5. Гилязетдинов Ш.Я., Вахитов В.А. и др. Изучение числа цистронов р-РНК у родительских форм гетерозисных гибридов растений. - БФАН СССР, 1976, с.156-167.
6. Гуляев В. Г. Генетика. - Москва, 1977, с.359.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. - Москва: Агропромиздат, 1985, с.350.
8. Иванова О. А., Кравченко Н. А. Генетика. - Москва: Колос, 1987, с.414.
9. Кирпичников В.С. Генетические механизмы и эволюция гетерозиса. Генетика. - 1974. - Т.10. - №4. - С.165-179.
10. Конарев В.Г. Биохимическая и молекулярная генетика гетерозиса. // Гетерозис. Вестник сельскохозяйственных наук, 1974, с.1-10.
11. Конарев В.Г. Белки как маркеры. - Москва: Колос, 1983. - 319 с.
12. Конарев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. - Москва: Колос, 1983. - 320 с.
13. Конарев В.Г. Природа гетерозиса и возможности его прогнозирования // С-х биол. - 1991. - №3. - С.3-10.
14. Конарев В.Г. Вид как биологическая система в эволюции и селекции. - Санкт-Петербург, 1995. -176 с.
15. Конарев В.Г, Ахметов Р.Р., Гилязетдинов Ш. Я. О природе гетерозиса и его проявлениях по данным биохимии и молекулярной генетики. - БФАН СССР, 1976, с.5-17.
16. Конарев В.Г., Гаврилюк И.П., Губарева Н.К. Белковые маркеры геномов пшениц и их диких сородичей // Доклады ВАСХНИЛ. - 1970. - №7. - С.16-18.
17. Шахбазов В.Г. Гетерозис – явление общебиологическое. - Москва, 1972, с.32.
18. Шестопалова Н.Г. Репродукция клеток при гетерозисе. - Харьков, 1981, с.83.

Prezentat la 18.07.2007