

SPONTÁN ÉS INDUKÁLT OPAQUE MUTÁNSOK AMINOSAV ÖSSZETÉTELÉNEK VIZSGÁLATA

MENYHÉRT ZOLTÁN

KOVÁCS GÉZÁNÉ

a biológiai tudományok kandidátusa

Agrártudományi Egyetem, Gödöllő

Napjaink kukorica nemesítőinek a termőképesség és a különböző irányú rezisztenciára való nemesítés mellett egyre több gondot okoz a kukoricaszem beltartalmi értékének javítása. Nagyon fontos nemesítési cél egyrészt a N : C arány szűkítése a fehérjetartalom növelése révén, másrészt a glutelin típusú fehérjerész növelése a zein típusú fehérjefrakció rovására. Ezen belül jelenleg elsődlegesen fontos feladatként jelentkezik: a lizin mennyiségének növelése az összes N-tartalmú anyagokhoz képest, azaz a lizin: protein arány szűkítése. Az eszenciális aminosavak mennyiségének növelése nemesítéssel megoldható, mivel MERTZ et al. (1964) felfedezése révén tudjuk, hogy a O_2 és fl_2 allélek génjeinek domináns \rightarrow recesszív irányú mutációja az eszenciális aminosavak növekedésével jár együtt.

Az opaque-os jelleggel együttjáró jobb aminosav összetétel back-cross módszerrel gyakorlatilag bármely törzsbe átvihető és hibridek előállításához felhasználható, azonban gyorsabb lenne, ha az említett nemesítési módszer helyett az opaqueos jelleg a különböző törzseknél mutációként állíthatnánk elő. LAMBERT és ALEXANDER (1968) szerint az opaque-2 allélben a domináns \rightarrow recesszív irányú spontán mutációk gyakorisága 1 : 300 000-re tehető, azonban az egyes beltenyésztett törzsek hajlamossága között igen nagy eltéréseket találtak. Így pl. a B37-es törzs spontán mutációs rátája $0,72 \cdot 10^{-5}$ ugyanez a C103-as törzsnél $0,15 \cdot 10^{-5}$ és az M14-nél $0,28 \cdot 10^{-5}$ volt.

Anyag és módszer

Tanszékünkön a már régebben folyó back-cross opaqueosításon kívül 1968-tól kezdve megpróbálkoztunk az opaque-os jelleg indukált mutációk előállításával is. A programban 23 beltenyésztett törzs szerepelt (WF9, M14, C5, O118b, 156, N6, Oh43, C103, W17, B14, R61, W32, BeO3b, C114, 579, 309, Fv4, A90, C44, 153R, T18/1, T18/2, 38—11). A spontán mutációs rátát gamma besugárzással kívántuk megnövelni, amihez segítséget nyújtott a tanszék mellett működő Sugárkert (Gamma Field). A törzsek besugárzása

szánt vetőmagját vetés előtt, légszáraz állapotban sugároztuk be, az alábbi besugárzási jellemzők mellett: Dózis: 7000 Rad, Dózis intenzitás: 475 R/óra, hőmérséklet besugárzásakor — átlag: 15,6° C (Minimum 10,1° C, maximum 21,6° C). A magvakat besugárzáshoz polietilén zacskóba csomagoltuk, s a sugárzás irányára merőleges rétegvastagság sehol sem haladta meg az 1 cm-t. Besugárzás után 24 órán belül elvetettük a magvakat a tanszék kísérleti terén. Az esetlegesen megjelent mutánsok kiszelektálása, valamint a spontán mutáció gyakoriságának ellenőrzése céljából az alábbi kezeléseket végeztük:

- a) kezeletlen kontroll önporzása
- b) 7000 Rad magkezelés \times $O_{2/2}$ tesztelés
- c) kezeletlen kontroll \times $O_{2/2}$ tesztelés

A $O_{2/2}$ homozigóta recesszív rákereszteléssel a kapott $O_2 \rightarrow o_2$ anyai származású mutációkat homozigótává tettük, amelyeket a homozigóta recesszív jelleghez kötött morfológiai bélyegek alapján el lehetett különíteni. Az elkülönítést átvilágítással ellenőriztük.

Az aminosavak vizsgálatát Bender—Hobein típusú „AMINOMAT” analizotárral végeztük. Jelenlegi vizsgálatunkban legfontosabbnak a lizintartalom megváltozását tartottuk, mert ez a megváltozás már önmagában is képes volt eldönteni, hogy valódi opaque mutánsokkal állunk-e szemben. Vizsgálatokhoz olyan töveket válogattunk ki, ahol az anyai és a teszter genotípusú opaque szegregáción kívül üveges fenotípusú szemek is előfordultak

Kapott eredmények és megvitatás

A mutánsok megjelenésére számítva az F_1 generáció minden egyes szemét le kellett vizsgálni. A vizsgálatok az alábbi eredményt adták.

1. A kezelésben részesült 23 törzs közül 1968-ban csupán 2 törzsnél kaptunk indukált mutációra utaló megváltozásokat. Ez a két törzs a C103 és M14-es törzs volt.
2. Fenti 2 törzsnél a mutánsok megjelenési gyakorisága az alábbi volt: (I. táblázat).

I. táblázat

Valódi és vélt mutánsok megjelenési gyakorisága a C103 és M14 törzseknél
Gödöllő, 1968.

Törzs	Vizsgált szemek száma	Vélt mutánsok száma	Valódi mutánsok száma	Mutációk megjelenési gyakorisága
C103	18 675	54	3	1 : 6225 = 0,17 : 10 ⁻³
M14	23 692	35	2	1 : 11846 = 0,91 : 10 ⁻⁴

1968-ban az ál-opaque szemek szétválasztása a valódi opaque szemektől csupán aminosav összetétele alapján lett volna lehetséges, ezt azonban az anyag potenciális értéke miatt nem végeztük el, hanem az utódok levizsgálása mellett döntöttünk. Valódi opaque-os mutánsoknak az 1969-es utódbírálat alapján csak azokat fogadtuk el, ahol a csövön legalább 95%-ban opaque-os szemeket nyertünk.

A kontrollként szerepelt variációkban opaqueos megváltozásra utaló szemeket nem sikerült kapni.

A mutánsok megjelenési gyakoriságára kapott szám nagyobb értéket adott volna akkor, ha nem zártuk volna ki mindazokat a szemeket, illetve csöveket, ahol bármilyen kis üvegesedést észleltünk, hiszen POLLACSEK (1969) szerint az üveges konzisztencia nem zárja ki feltétlenül az O_2 opaque gén homozigóta recesszív állapotát. Erre az aminosav összetételt feltáró beltartalmi vizsgálat ad felvilágosítást.

A vizsgálatok a következő eredményeket adták:

II. táblázat

Különböző fenotípusú M14/ O_2 és C103/ O_2 , valamint normál M14 és C103 szemek összehasonlítása (Gödöllő, 1969)

Megnevezés	Olaj %	Fehérje %	Lizin g/100 g f.
M14 normál	4,00	11,5	2,56
M14/ O_2 sárga	4,46	10,8	3,48
M14/ O_2 fehér	4,62	11,5	3,55
M14/ O_2 üveges	5,30	11,5	3,60
(M14 norm. $\times O_2$) S_1	4,15	11,6	2,71
C103 normál	5,14	11,1	2,44
C103/ O_2 sárga	4,70	10,4	3,45
C103/ O_2 fehér	4,59	9,9	3,98
C103/ O_2 üveges	5,15	8,2	3,49
Op 2/2 standard	5,56	11,3	4,40

A vizsgálatok azt mutatták, hogy a kiinduló törzshöz képest az opaque-os fenotípus kísérőjeként a lizintartalom emelkedése valóban bekövetkezett, tehát a kapott mutációk az O_2 allélban keletkeztek. Az olajtartalmi és fehérjetartalmi adatok szintén ezt a megállapítást valószínűsítik. Kíváncsiak voltunk arra, hogy minden esetben együtt jár-e az O_2 allél homozigóta recesszív állapotával a fenotípusos opálás, vagy matt jelleg? A táblázatban szereplő opaque variánsok teljesen megegyező genetikai származásúak, de fenotípusosan különbözőek, s az ebből kapott üveges szemek csupán fenotípusosan térnek el az opaqueos fenotípusúaktól. Az üveges konzisztencia tehát nem szükségszerűen kizáró jelleg az opaqueosságra nézve. Ez a következtetés megegyezik

PAEZ et al. (1969) vizsgálatával, aki az opaque anyag fenotípusos hasadására a miénkkel megegyező lizintartalom változást kapott.

Praktikus szempontokat figyelembe véve azonban az opaque mutációk szelektálásával mégis meg kell maradnunk az átvilágításos módszernél, mivel az üveges szemek genetikai állapotát csak igen költséges aminosav vizsgálatokkal lehet felülvizsgálni.

Összefoglalás

1. 1968-ban 23 törzzsel ^{60}Co gamma sugárzó izotóp felhasználásával megpróbáltuk növelni az $\text{O}_2 \leftrightarrow \text{o}_2$ mutációk megjelenési gyakoriságát. Ez a C103 és az M14-es törzseknél sikeres volt, mindkettőnél a spontán mutációk megjelenési gyakoriságát sokszorosán meghaladó számban kaptunk indukáltnak vehető génmutációkat, amelyeket az $\text{O } 2/2$ teszter segítségével sikerült kiemelniük.

2. Az elvégzett aminosav vizsgálat a fenotípusosan opaque-osnak látszó mutánsok valódiságát igazolta, mivel az O_2 allél homozigóta recesszív állapotához kötött módosult aminosav összetétel valóban bekövetkezett.

3. A opaque-osság, mint genetikai jelleg részleges üveges fenotípussal is párosulhat. (Az általunk megfigyelt anyagon az üvegesség nem terjedt ki a teljes szemre, hanem csupán az endospermium egy részére.)

IRODALOM

- LAMBERT, R. J., ALEXANDER, D. E. (1968): Spontaneous mutation Rate at the Opaque-2 locus in Maize. *The Journal of Heredity*, **59**, (6) 378—379.
- MERTZ, E. T., BATES, L. S.—NELSON, D. E. (1964): Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145 279.
- PAEZ, A. V., HELM, J. L., ZUBER M. S. (1969): Lysine content of Opaque-2 Maize Kernels Having Different Phenotypes. *Crop Science*, **9**, (2) 251—252.
- POLLACSEK, M.—CAUDERON, A.—CAENEN, M. (1969): Kernel Texture and Lysine Content in Opaque-2 Maize. *Proc. in. Eur. Ass. f. Research on Plant Breeding 5th meeting of EUCARPIA Maize and Sorghum Section. Bpest—Martonvásár 2.9.—5.9 1969.*

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА АМИНОКИСЛОТ СПОНТАННЫХ И ИНДУЦИРОВАННЫХ МУТАНТОВ

З. МЕНЬХЕРТ—Г.НЭ КОВАЧ
 Университет аграрных наук г. Гед лле (Венгрия)

РЕЗЮМЕ

1. В 1968 году при помощи гамма-источника ^{60}Co на 23 линиях попытались повысить частоту проявления мутантов $\text{O}_2 \rightarrow \text{o}_2$. Эта работа у линии С-103 и М-14 увенчалась успехом. У обеих линий получили количество индуцированных генных мутантов, многократно превышающем частоту проявления спонтанных мутантов, а выделить их удалось при помощи тестера $\text{O}_2/2$.

2. Проведенные исследования состава аминокислот мутантов, сходных по фенотипу с opak, также подтвердили их сходство с последними, так как подтвердилось, что изменился состав аминокислот, соответствующий гомозиготному рецессивному состоянию аллеля O_2 .

3. Опак, как генетический признак может одновременно проявиться с фенотипом частичной стекловидности. (В исследовавшемся нами материале стекловидность не распространилась на целое зерно, а только на часть эндосперма.)

UNTERSUCHUNG DER AMINOSÄUREZUSAMMENSETZUNG VON SPONTANEN UND INDUZIERTEN OPAQUE-MUTANTEN

Z. MENYHÉRT und FRAU G. KOVÁCS
Universität für Agrarwissenschaften, Gödöllő (Ungarn)

ZUSAMMENFASSUNG

1. Im Jahre 1968 versuchten Verfasser mittels Verwendung vom Gammastrahlenden Isotop ^{60}Co , bei 23 Stämmen die Erscheinungshäufigkeit der Mutationen $\text{O}_2 \rightarrow \text{o}_2$ zu steigern. Der Versuch gelang bei den Stämmen C-103 und M-14. Es wurden bei beiden als induziert annehmbare Genmutationen in solcher Zahl gewonnen, die die Erscheinungshäufigkeit der spontanen Mutationen mehrfach übertraf. Diese Genmutationen konnten mit Hilfe vom Tester $\text{Op } 2/2$ herausgehoben werden.

2. Die Aminosäureuntersuchungen beweisen die Echtheit der Mutanten die phenotypisch als opakisch erschienen. Die modifizierte Aminosäure-Zusammensetzung, welche an den rezessiven Zustand des Allel-Homozygoten Op_2 gebunden ist, war nämlich tatsächlich zu beobachten.

3. Die Opaqueheit, als genetische Eigenart kann sich auch mit partiell glasigem Phenotyp paaren. (Beim vom Verfasser beobachteten Material verbreitete sich die Glasigkeit nicht auf das ganze Korn, sondern nur auf einen Teil vom Endospermium.)

INVESTIGATION OF THE COMPOSITION OF AMINO ACIDS OF SPONTANEOUS AND INDUCED OPAQUE MUTANTS

Z. MENYHÉRT and MRS. G. KOVÁCS
University of Agricultural Sciences, Gödöllő (Hungary)

SUMMARY

1. In 1968 with 23 lines using ^{60}Co gamma radiation isotope we tried to increase the frequency of the occurrence of $\text{O}_2 \rightarrow \text{o}_2$ mutants. This was possible in the C-103 and M-14 lines. In both cases gene mutants which can be taken as induced were obtained many times surpassing the frequency of spontaneous mutant occurrences. These could be demonstrated by means of the $\text{Op } 2/2$ tester.

2. The amino acid investigation, proved the genuineness of the seemingly phenotypic opaque mutants, since the modified amino acid composition connected to the homozygous recessive state of the Op_2 allele really occurred.

3. Opaqueness as a genetic feature may be accompanied by a partially glazed phenotype too. (According to our observations glazyness did not spread across the whole kernel, but merely on one part of the endospermium.)