

УДК 575.1:575.2:581.15

НОВЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ЭПИСТАТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ В КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ГЕНЕТИКЕ РАСТЕНИЙ И ЕГО СРАВНЕНИЕ С ДРУГИМИ МЕТОДАМИ

Е. И. СОКОЛОВА

Луганский национальный аграрный университет
Украина, 91008, г. Луганск, Луганский национальный аграрный университет

Предложен метод оценки взаимодействия (эпистаза) двух генов по средним фенотипическим значениям и их выборочным ошибкам всех четырех возможных гомозигот (AABB, aaBB, AAbb, aabb). Метод основан на вычислении эпистатического отклонения и его статистической ошибки и позволяет: 1) оценить достоверность эпистаза; 2) решить вопрос о его направлении (положительный или отрицательный); 3) найти абсолютную (в единицах измерения признака) и относительную (в долях или процентах) оценку силы или степени эпистаза. В экспериментах с использованием картированных генов модельного растительного объекта арабидопсиса показано, что новый метод оценки взаимодействия генов в сравнении с известными (анализ эффектов замены аллелей на разных генофонах, метод К. Мазера и Д. Джинкса, дисперсионный анализ) в ряде аспектов лучше и соответствует задачам управления селекционным процессом у самоопылителей.

Ключевые слова: взаимодействие генов, эпистаз, аддитивное действие генов.

ВВЕДЕНИЕ. Взаимодействие генов было открыто в начале прошлого века [1], но и спустя много десятилетий констатировали, что оно мало изучено. Все многообразие взаимодействий обычно сводят к следующим основным типам: 1) комплементарность; 2) эпистаз; 3) полимерия; 4) модифицирующее действие [2]. Известны и другие подходы к классификации взаимодействий [3–5].

Предложенный К. Мазером биометрический подход к описанию наивысшего количества количественных различий, долгое время владевший умами исследователей, вначале не учитывал взаимодействие генов [6]. В дальнейшем пришлось создавать модели, допускающие это явление [7]. Для описания взаимодействия двух генов предложили четыре параметра: i_{ab} (гомозиготно-гомозиготное взаимодействие), j_{ab} , j_{ba}

(гомозиготно-гетерозиготные взаимодействия) и I_{ab} (гетерозиготно-гетерозиготное взаимодействие) [7]. Однако показано, что i_{ab} , j_{ab} , j_{ba} и I_{ab} являются не генетическими параметрами, а компонентами средних арифметических значений, не имеющими ясного генетического смысла [8]. Эти компоненты отражают взаимодействие генов, но не только они, а и предположенные для других целей мазеровские параметры, причем отражают очень опосредованно [8].

Хотя проблема совместного действия и взаимодействия генов, влияющих на количественные признаки, имеет не только теоретический, но и важный практический интерес, однако и в наше время она слабо разработана. Очевидно, что необходимы углубленные исследования в данном направлении.

Материалы и методы

Исходной линией была гомозиготная линия арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) *Landsberg erecta* по гену (*Ler*, *er*). На ее генетической основе получены мутантные чистые линии по генам *ch1*, *gl1*, *dis2* и *tfl* [9]. Рецессивная аллель *ch1* (хромосома 1 — локус 58) в гомозиготном состоянии детерминирует зеленовато-желтую окраску растений, *gl1* (3–46) — отсутствие волосков на листьях и стебле, *dis2* (1–45) — укороченные волоски и *tfl* (5–2) — раннее формирование верхушечного цветка в соцветии [9]. Используя мутантные линии, путем синтетической селекции мы получили димутантные линии по генам *ch1*, *gl1* и *dis2*, *tfl*.

В первом опыте при полной рендомизации выращивали растения всех четырех возможных гомозиготных

генотипов, возникающих при комбинации аллелей *CH1*, *ch1*, *GL1* и *gl1*: *CH1CH1GL1GL1* (линия *Ler*), *ch1ch1GL1GL1* (линия *ch1*), *CH1CH1gl1gl1* (линия *gl1*) и *ch1ch1gl1gl1* (линия *ch1, gl1*). Во втором эксперименте — четыре следующих гомозиготных генотипа: *DIS2DIS2TFLTFL* (линия по гену *Ler*), *dis2dis2TFLTFL* (линия по гену *dis2*), *DIS2DIS2tfltfl* (линия *tfl*) и *dis2dis2tfltfl* (линия *dis2, tfl*).

Результаты и обсуждение

Известно, что между аллелями одного и того же гена обнаруживаются те или иные межаллельные (внутригенные) взаимодействия, отношения доминирования. Если среднее фенотипическое значение гетерозиготы Aa больше средней гомозиготы m ($m = (\overline{AA} + \overline{aa})/2$), то говорят о положительном доминировании или плюс-доминировании. Напротив, если $\overline{Aa} < (\overline{AA} + \overline{aa})/2$, то это — отрицательное доминирование или минус-доминирование. Понятно, что при $\overline{Aa} = m$ следует говорить об отсутствии межаллельного взаимодействия, отсутствии доминирования (полудоминировании) или аддитивном действии аллелей одного гена.

На рисунке представлены пять различных случаев расположения на числовой оси средних фенотипических значений четырех гомозиготных генотипов (*AABB*, *aaBB*, *AAbb*, *aabb*). Заметим, что поиск, выделение и размножение ценных в хозяйственном отношении гомозигот и является задачей синтетической селекции самоопыляющихся растений [10].

Примем генотип *AABB* за исходный, базовый, и вычислим эффекты замены аллелей *A* на *a* и *B* на *b* (рис.). Значение количественного признака у генотипа

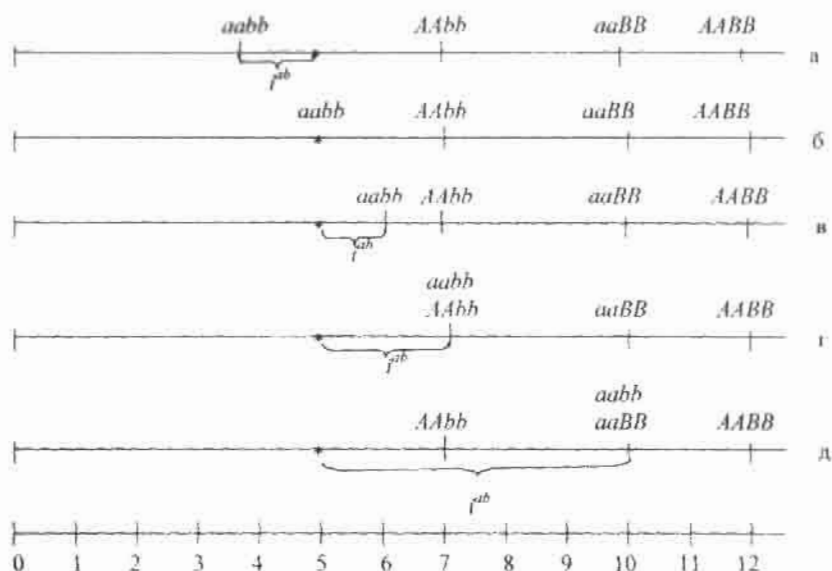


Рисунок. Расположение средних фенотипических значений гомозиготных генотипов на числовой оси: а — отрицательный эпистаз, б — аддитивное действие генов, в-д — положительный эпистаз.

AABB равно 12. Аллель *a* в гомозиготном состоянии уменьшает значение признака на 2, аллель *b* — на 5. Иначе говоря, аддитивный эффект аллели *a* $d_a = -2$, тогда как $d_b = -5$ (рис.). При аддитивном действии генов их совместное влияние равно алгебраической сумме эффектов отдельных генов, то есть $d_{ab} = d_a + d_b = -2 + (-5) = -7$. Понятно, что ожидаемое при аддитивном действии генов значение признака у генотипа *aabb*, обозначенное на рисунке звездочкой, равно $5 (A = \overline{AABB} + d_{ab} = 12 + (-7) = 5)$.

Если фактическое значение \overline{aabb} достоверно не отличается от *A*, то принимается аддитивная модель наследования признака (рис.).

Если $\overline{aabb} < A$, то по аналогии с тем, как мы поступаем при анализе внутрисемейных взаимодействий, здесь следует говорить об отрицательном эпистазе (рис. а). Если $\overline{aabb} > A$, то это —

свидетельство положительного эпистаза (рис. в-д).

Итак, все случаи отклонения от аддитивности, понимаемые как взаимодействие генов, можно подразделить на две категории или группы: положительный эпистаз (плюс-эпистаз) и отрицательный эпистаз (минус-эпистаз).

Взаимодействие генов может быть доказано путем оценки достоверности эпистатического отклонения, параметра $i^{ab} = \overline{aabb} - A = \overline{aabb} + \overline{AABB} - \overline{aaBB} - \overline{AAbb}$. Здесь *ab* мы пишем в надстрочном индексе, чтобы не было путаницы с мазеровским параметром i_{ab} .

Ошибка эпистатического отклонения

$$s_{i^{ab}} = \sqrt{s_{AABB}^2 + s_{aabb}^2 + s_{aaBB}^2 + s_{AAbb}^2}$$

Критерием достоверности эпистатического отклонения является упро-

ценный t-критерий Стьюдента [7] ($t = i^{ab}/s_{i^{ab}}$). Если $t \geq 2$, то параметр i^{ab} считается достоверным, аддитивная модель признается неадекватной, а взаимодействие генов — доказанным. В противном случае принимается аддитивная модель.

Отношение i^{ab} к \overline{AABB} является параметром, оценивающим относительную силу (степень) эпистаза ($l = i^{ab}/\overline{AABB}$). При аддитивном действии генов $l = 0$, поскольку $i^{ab} = 0$. При положительном эпистазе $0 < l$, при отрицательном $l < 0$. Относительную силу эпистаза можно использовать при сравнении взаимодействий генов по разным признакам.

Покажем возможности предлагаемого метода оценки эпистаза на нескольких примерах, используя данные, полученные при изучении плейотропного действия аллелей *ch1*, *gl1*, *dis2* и *tfl* на количественные признаки (табл. 1).

Как аллель *ch1*, так и аллель *gl1* увеличивают период времени от посева до начала цветения, то есть являются аллелями-усилителями данного признака (табл. 1). Эти же аллели по отношению к признаку "высота стебля" ведут себя как аллели-уменьшители признака (табл. 1). Аллель *ch1* уменьшает массу растений, тогда как *gl1* ее увеличивает; по данному признаку эти

аллели противоположны по своему действию (табл. 1). Противоположный эффект на признаки "число листьев в розетке" и "число листьев на стебле" обнаруживали также аллели *dis2* и *tfl* (табл. 1).

По признаку "число дней от посева до цветения" $i^{ab} = -6,7 \pm 1,93$. Поскольку значение упрощенного t-критерия, равное частному от деления значения параметра i_{ab} на его ошибку, значительно больше двух, отрицательное взаимодействие генов считается достоверным. Оценка относительной силы взаимодействия генов (эпистаза) $l = -6,70/33,2 \pm -0,20 (-20\%)$. По высоте стебля $i^{ab} = 6,97 \pm 1,64$. Поскольку $t > 2$, положительный эпистаз считается достоверным. Оценка относительной силы эпистаза $l = 6,97/20,8 = 0,34 (34\%)$. По признаку "число листьев в розетке" $i^{ab} = -1,52 \pm 0,50$, $l = -0,23 (-23\%)$; имеет место достоверный отрицательный эпистаз. В отличие от этого, по числу листьев на стебле принимается аддитивная модель ($i^{ab} = -0,29 \pm 0,23$, $t < 2$), как и по признаку "масса растений" ($i^{ab} = -8,49 \pm 18,28$, $t < 2$).

Как видим, предлагаемый метод изучения эпистаза позволяет: 1) оценить достоверность эпистаза; 2) решить вопрос о его направлении (положительный или отрицательный); 3) найти абсолютную (в единицах измерения

Таблица 1. Фенотипические значения количественных признаков и их ошибки у исходной (*Ler*), мутантных и димутантных линий арабидопсиса

Гены линий	Число дней до цветения	Высота стебля	Масса растений	Линии	Число листьев в розетке	Число листьев на стебле
<i>Ler</i>	33,19±0,47	20,83±0,91	69,55±4,02	<i>Ler</i>	6,51±0,27	2,92±0,12
<i>ch1</i>	43,33±1,36	14,96±0,87	40,52±3,42	<i>dis2</i>	8,80±0,32	3,53±0,16
<i>gl1</i>	34,96±0,59	10,38±0,79	123,24±7,09	<i>tfl</i>	5,05±0,19	2,20±0,08
<i>ch1, gl1</i>	38,40±1,15	11,48±0,69	85,72±16,00	<i>dis2, tfl</i>	5,82±0,20	2,52±0,09

признака) и относительную (в долях или процентах) оценку силы эпистаза. Метод имеет свою область применения: 1) он предназначен для изучения совместного действия двух генов; 2) для его применения необходимы данные о всех четырех возможных при диаллельной схеме наследования гомозиготных генотипах.

Для решения вопроса об отсутствии или наличии эпистаза в свое время было предложено использовать сравнение эффектов замены аллелей на разных генотипах [12, 13]. Если они независимы от генотипа по другому локусу, то два гена (локуса) действуют аддитивно, если зависят от другого генотипа, то два гена проявляют эпистаз.

Ради экономии места громоздкие расчеты, проведенные при использовании этого метода, здесь не приводятся. Отметим лишь, что полученные выводы согласуются с теми, что сделаны выше при использовании предлагаемого нами метода оценки эпистаза. Анализ эффектов замены аллелей на разных генотипах позволяет

решить лишь вопрос о наличии или отсутствии взаимодействия генов, но направление и сила эпистаза, являющиеся существенной частью описания взаимодействия, при этом не оцениваются.

Вопрос о наличии или отсутствии взаимодействия генов решали также путем использования двухфакторного дисперсионного анализа. По массе растений и числу листьев на стебле взаимодействием генов можно пренебречь, по остальным признакам обнаруживается высокодостоверное взаимодействие генов (табл. 2). Эти выводы согласуются с выше изложенными, полученными другими методами.

Предложены различные показатели силы факториальных влияний и их взаимодействия при анализе дисперсионных комплексов [11, 13], но все они имеют иной смысл, чем предлагаемый нами. У нас это отклонение фактического фенотипического значения признака у гомозиготного генотипа, объединяющего обе изучаемые

Таблица 2. Показатели взаимодействия генов, полученные различными методами

Признаки	Предлагаемый нами метод		Метод Мазера — Джинкса		Дисперсионный анализ	
	абсолют. (F^*)	относит. (I)	абсолют. (I_{ab})	относит. (I_{ab}/m)	абсолют.	относит. (h^2)
Число дней от посева до цветения	$-6,70 \pm 1,93^*$	-0,18	$-1,67 \pm 0,48^*$	-0,04	—	0,06***
Высота стебля	$6,97 \pm 1,64^*$	0,48	$1,74 \pm 0,41^*$	0,12	—	0,08***
Масса растений	$-8,49 \pm 18,28$	-0,11	$-2,12 \pm 4,57$	-0,03	—	0,00
Число листьев в розетке	$-1,52 \pm 0,51^*$	-0,23	$-0,38 \pm 0,13^*$	-0,06	—	0,03**
Число листьев на стебле	$-0,28 \pm 0,23$	-0,10	$-0,07 \pm 0,06$	-0,02	—	0,01

Замечание: * — взаимодействие генов достоверно; **, *** — взаимодействие высокодостоверно.

аллели двух генов, от того значения, которое ожидается при их аддитивном действии. Наша оценка направления и силы эпистаза представляет интерес для селекционеров. При дисперсионном анализе — это доля разнообразия, обусловленного взаимодействием генов, в общем разнообразии. Эффективное использование показателей силы эпистаза, полученных при дисперсионном анализе, проблематично, — они не указывают даже на направление эпистаза.

Для полного описания фенотипических различий в рамках биометрического подхода необходимы четыре параметра [7]. Один из них отражает вклад гена А в аддитивную генотипическую изменчивость (d_a), другой — аналогичный вклад гена В (d_b). Еще один параметр i_{ab} характеризует взаимодействие генов.

Эти параметры являются компонентами фенотипических значений генотипов [7]:

$$\overline{AABB} = m + d_a + d_b + i_{ab};$$

$$\overline{aaBB} = m - d_a + d_b - i_{ab};$$

$$\overline{AAbb} = m + d_a - d_b - i_{ab};$$

$$\overline{aabb} = m - d_a - d_b + i_{ab}.$$

Подставляя в уравнения фенотипические значения генотипов, получаем систему из четырех линейных уравнений с четырьмя неизвестными, которую можно решить тем или иным способом, в том числе с использованием матричной алгебры. Средние значения признаков у разных генотипов оценены с неодинаковой точностью, поэтому должны быть взвешены. Весами являются величины, обратные квадратам ошибок средних ($1/s^2$).

Значения параметров i_{ab} приведены в табл. 2. Взаимодействие генов установлено по признакам "число дней от

посева до начала цветения", "высота стебля" и "число листьев в розетке", по признакам "масса растений" и "число листьев на стебле" взаимодействием генов можно пренебречь (табл. 2). Данные заключения тоже согласуются с тем, что установлено ранее другими методами.

Значения предложенных Мазером-Джинксом параметров i_{ab} и их ошибки в четыре раза меньше значений наших параметров i^{ab} и их ошибок (табл. 2). Можно доказать, что так и должно быть.

Составим на основании приведенной выше системы уравнений одно уравнение. Для этого из левой части первого уравнения вычтем левую часть второго и третьего, но прибавим левую часть последнего уравнения. То же самое сделаем с правыми частями уравнений. В результате получаем следующее уравнение:

$$\begin{aligned} \overline{AABB} - \overline{aaBB} - \overline{AAbb} + \overline{aabb} = \\ = m + d_a + d_b + i_{ab} - m + d_a - d_b + i_{ab} - m - \\ - d_a + d_b + i_{ab} + m - d_a - d_b + i_{ab}. \end{aligned}$$

Произведем сокращения:

$$\overline{AABB} - \overline{aaBB} - \overline{AAbb} + \overline{aabb} = 4i_{ab}.$$

Поскольку наша оценка эпистаза $i^{ab} = \overline{AABB} - \overline{aaBB} - \overline{AAbb} + \overline{aabb} = 4i_{ab}$,

$$\text{то } i^{ab} = 4i_{ab}.$$

Действительно, наша оценка эпистаза в четыре раза больше той, которую предлагали К. Мазер и Д. Джинкс, что и требовалось доказать.

Для решения вопроса о наличии или отсутствии взаимодействия оба сравниваемых здесь параметра, i^{ab} и i_{ab} , абсолютно равноценны. Причина в том, что увеличение (уменьшение) величины параметра в то или иное число раз с одновременным таким же увеличением (уменьшением) его ошибки не меняет значения t-критерия, являю-

щегося отношением значения параметра к его ошибке. Одинаково успешно параметры i^{ab} и i_{ab} определяют и направление эпистаза, — плюс-эпистаз, если значение параметра со знаком "+", и минус-эпистаз, если оно со знаком "-".

Сказанное не означает, что оба метода оценки эпистаза, наш и предложенный К. Мазером и Д. Джинксом, полностью равноценны. Параметр i^{ab} в сравнении с i_{ab} имеет два преимущества. Во-первых, он имеет ясный генетический смысл, — это эпистатическое отклонение наблюдаемого фенотипического значения гомозиготы, объединяющей оба интересующих генетика и селекционера неаллельных гена, от ожидаемого при аддитивном действии генов значения (рис.). В отличие от этого, параметр i_{ab} сам по себе не имеет ясного биологического смысла; i_{ab} — просто одна из компонент, на которые подразделяются средние арифметические значения. Лишь умножив i_{ab} на четыре, мы получим величину i^{ab} , которая имеет определенный смысл и значение.

Во-вторых, вычисление нашего параметра i^{ab} и его ошибки репрезентативности по приведенным выше формулам определенно проще, чем нахождение параметра i_{ab} . Значения эпистатического отклонения и его ошибки ($i^{ab} \pm s_{i^{ab}}$) могут быть легко найдены даже на непрограммируемых калькуляторах. Определение $i_{ab} \pm s_{i_{ab}}$ предполагает решение системы из четырех линейных уравнений, обычно с использованием матричного анализа. Это значит, что исследователь должен в общих чертах знать матричную алгебру, методы решения систем линейных уравнений, что не преподавалось и не преподается в ВУЗах по биологическим и агрономическим специальностям.

Вычислительная математика традиционно изучается по техническим специальностям [14], да и то в объеме, не вполне достаточном для использования метода Мазера — Джинкса. Для облегчения расчетов необходима и соответствующая программа для персонального компьютера.

Очевидно, что из всех рассмотренных в данной статье методов оценки взаимодействия генов по количественным признакам предлагаемый нами метод является наиболее предпочтительным. Он прост и соответствует задачам управления селекционным процессом у самоопылителей.

Выражаем искреннюю благодарность директору Ноттингемского центра по сохранению генетической коллекции арабидопсиса доктору Mary Anderson и ее сотрудникам за предоставление семян исходных линий.

Выводы

1. Все многообразие взаимодействия генов в количественной генетике целесообразно подразделять на две категории или группы: а) положительное взаимодействие (положительный эпистаз) и б) отрицательное взаимодействие (отрицательный эпистаз). При положительном взаимодействии наблюдаемое фенотипическое значение гомозиготного генотипа, несущего оба исследуемых генов, больше того, которое ожидается при аддитивном действии генов. При отрицательном эпистазе наблюдаемое значение меньше ожидаемого.

2. Об эпистазе или его отсутствии предлагается судить на основании эпистатического отклонения i^{ab} . Критерием достоверности взаимодействия генов является отношение параметра i^{ab} к его ошибке (упрощенный t-критерий Стьюдента).

3. Оценкой относительной силы взаимодействия генов I является отношение параметра i^{ab} к исходной доминантной гомозиготе по обоим генам $AABB$ ($I = i^{ab}/AABB$).

4. Предлагаемый метод оценки взаимодействия генов в ряде аспектов лучше известных и соответствует задачам управления селекционным процессом у самоопылителей.

Список литературы

1. Bateson W. Mendel's Principles of Heredity. First published in 1902, 3rd impression. — Cambridge, 1913. — 413 p.
2. Лобашев М.Е. Генетика. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1967. — 751 с.
3. Гершкович И. Генетика. — М.: Наука, 1968. — 702 с.
4. Fasoulas A. Principles and methods of plant breeding // Thessaloniki: Aristotel. University. — 1981. — № 11. — 117 p.
5. Fasoulas A. Theaching allelic and nonallelic gene interaction in elementary genetics // Thessaloniki: Aristotel. University. — 1971. — 30 p.
6. Mather K. Biometrical Genetics. — London: Methuen and Co. Ltd., 1949. — 162 p.
7. Мазер К., Джинкс Д. Биометрическая генетика. — М.: Мир, 1985. — 486 с.
8. Соколов И.Д., Шелихов П.В., Соколова Е.И., Соколова Т.И. Анализ средних значений признака по Мазеру-Джинксу и проблемы селекции. — Луганск: Изд-во ВУГУ, 1997. — 168 с.
9. Seed List. The Nottingham Arabidopsis stock centre. — Nottingham: The Univer of Notting., 1994. — 147 p.
10. Вавилов Н.И. Научные основы селекции пшеницы // Теоретические основы селекции растений. Ч. 2. Частная селекция зерновых и кормовых культур. — М.—Л.: Сельхозгиз, 1935. — С. 5-224.
11. Фолкнер Ю.А. Введение в генетику количественных признаков. — М.: Агропромиздат, 1985. — 485 с.
12. Russel E. A quantitative histological study of the pigment found in the coat-color mutants of the house mouse. IV. The nature of the effects of genetic substitution in five major allelic series // Genetics. — 1949. — Vol. 34. — P. 146-166.

13. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. — Минск: Высшая школа, 1974. — 448 с.

14. Демидович Б.П., Марон И.А. Основы вычислительной математики. — М.: Наука, 1966. — 664 с.

Представлено Т.М. Чеченевой
Надійшла 1.10.2007

НОВИЙ МЕТОД ОЦІНКИ ЕПІСТАТИЧНОЇ ВЗАЄМОДІЇ ГЕНІВ В КІЛЬКІСНІЙ ГЕНЕТИЦІ РОСЛИН І ЙОГО ПОРІВНЯННЯ З ІНШИМИ МЕТОДАМИ

О.І. Соколова

Луганський національний аграрний університет
Україна, 91008, м. Луганськ, Луганський національний аграрний університет

Запропонований метод оцінки взаємодії двох генів, заснований на розрахунку епістатичного відхилення і його статистичної помилки. В експериментах на арабідопсисі показано, що новий метод у ряді аспектів кращий за відомі методи і відповідає завданню управління селекційним процесом у самозапильовачів.

Ключові слова: взаємодія генів, епістаз, адитивна дія генів, арабідопсис.

THE NEW METHOD OF GENES' INTERACTION ASSESSMENT IN QUANTITATIVE GENETICS OF PLANTS AND HIS COMPARISON WITH OTHER METHODS

E.I. Sokolova

Lugansk National Agrarian University
Ukraine, 91008, Lugansk, Lugansk National Agrarian University

The method of two genes' interaction assessment based upon the calculation of epistatical deviation and its statistical error is proposed. The experiments on *Arabidopsis* showed, that the new method appeared to be better in some aspects, then the wellknown ones, and the above mentioned new method met the tasks of managing the process of selection at self-pollinating plants.

Key words: interaction of genes, epistasis, additive action of genes, *Arabidopsis*.