

УДК: 575.224:638.584.78

Генетичний аналіз ознак строкатолистої форми соняшника О.А.Задорожна

Інститут рослинництва імені В.Я.Юр'єва УААН (Харків, Україна)
olzador@ukr.net

Описано галузисту строкатолисту форму соняшника (*Helianthus annus* L.). Галузистість рослини контролюється одним доміантним геном. Ознака строкатолистої є рецесивною та контролюється геном-супресором. Ознака антоціанового забарвлення рослин контролюється двома генами, прояв яких відбувається завдяки комплементарної їх дії.

Ключові слова: соняшник, успадкування, строкатолистість, галузистість, антоціан.

Генетический анализ признаков пестролистной формы подсолнечника О.А.Задорожная

Описана ветвистая пестролистная форма подсолнечника (*Helianthus annus* L.). Признак ветвистости контролируется одним доминантным геном. Признак пестролистности определяется рецессивным геном, который контролируется геном-супрессором. Признак антоцианового окрашивания растения определяется двумя генами с комплементарным взаимодействием.

Ключевые слова: подсолнечник, наследование, пестролистность, ветвистость, антоциан.

Genetic analysis of the leaf-variegated sunflower form morphological traits O.A.Zadorozhna

Leaf-variegated sunflower (*Helianthus annus* L.) form has been investigated. Branching is determined by one dominant gene. Inheritance of leaf variation is determined by recessive gene, controlled by gene-supressor. Anthocyan colour of a plant is controlled by two complementary genes.

Key words: sunflower, inheritance, leaf-variegating, brunching, anthocyan.

Вступ

Соняшник (*Helianthus annus* L.) має велику кількість морфологічних ознак, які можуть бути використані як маркерні (Гаврилова, Анисимова, 2003). Використання маркерних ознак необхідно для покращення селекції соняшнику, надання товарного вигляду рослинам певної форми, подальшої відповідності критеріям однорідності, відмінності та стабільності згідно рекомендацій Міжнародного союзу з охорони нових сортів (Охорона прав на сорти рослин ..., 2003).

Як відомо, в якості маркерних ознак соняшнику можуть використовуватись забарвлення трубчатих та язичкових квіток кошику, морфологічні та кольорові особливості листової пластинки, обгортки кошику, стебла, хлорофільні мутації та ін. (Ведмедева, 2004; Шарьпіна и др., 2006; Калайджян и др., 2007). Хлорофільні мутації можуть бути використані в якості маркерів тому, що мають помітний фенотиповий прояв і легку доступність до кількісного підрахунку. З точки зору можливості використання як маркерної хлорофільна мутація строкатолистої форми соняшника є перспективною. Нами проведено дослідження успадкування ознак строкатолистої форми соняшника (Задорожна, Кириченко, 2008). Встановлено відсутність цитоплазматичного, ядерного доміантного та кодоміантного характеру успадкування ознаки строкатолистої цієї форми. В дослідженій формі спостерігали також доміантну галузистість. До цих досліджень строкатолистість соняшнику була описана (Randy & Sherms Plant Collection), але не визначено її успадкування. Було також описано моногенну доміантну галузистість (Miller, Fick, 1997). Відомо також про характер успадкування ознаки хлорофілодефіциту соняшнику. Він виявився рецесивним моногенним (Yue et al., 2009).

Строкатолистість рослин у більшості випадків успадковується цитоплазматично (Hartl, Jones, 1998). Виділення світлих плям відбувається рано під час розвитку листа. Як наслідок, розвивається велика, ясно виділена безкольорова (або жовта) частка на листі. Ця строкатість обумовлена двома типами пластид. Нормальні пластиди є зеленими, світлі можуть бути безкольоровими чи світло-зеленими. Цитоплазматична строкатість відома як для диких рослин, так і для сільськогосподарських культур (Briggle, 1966). У модельного об'єкта *Arabidopsis thaliana* виділена мутантна форма, яка мала строкатість, обумовлену різним типом хлоропластів, розвиток яких контролювався ядерними генами (Chen et al., 1999). В зеленій частині листа містились клітини з морфологічно нормальними хлоропластами. В жовтій частині листа містились клітини з рудиментарними ламелярними

структурами і нормально утвореними хлоропластами. Проведені авторами дослідження свідчать, що ядерна мутація «пластидна автономія» по-різному впливає на ці пластиди. При високих температурах та низькому освітленні рослини майже всі зелені. Генетичний аналіз показав, що ця пластидна аномалія не має цитоплазматичного ефекту і контролюється одним рецесивним геном *var2*. Автори досліджень припускають, що стохастичний процес утворення строкатості у мутанта виникає внаслідок взаємодії факторів, які регулюють експресію гена *var2*, і факторів, що є посередниками між клітинним та пластидним поділом. Інформації про подібні дослідження строкатолистості соняшнику нами не знайдено.

У зв'язку з цим метою даної роботи було встановити успадкування ознак строкатолистої форми соняшника в F_1 і F_2 , проаналізувати успадкування ознак строкатолистості, галузистості та антоціанового забарвлення. Для досягнення мети було поставлено завдання вивчити у поколінні F_2 особливості прояву та успадкування строкатих плям на листах, успадкування галузнення та наявність антоціанового забарвлення.

Матеріал і методи

Матеріалом для досліджень були рослини соняшнику (*Helianthus annuus* L.) F_2 , одержані при самозапиленні гібридної рослини F_1 , яка за фенотипом була зелена, галузиста, з вмістом антоціану (рис. 1). Гібридна рослина F_1 була одержана від схрещування строкатолистої галузистої форми з вмістом антоціану М (рис. 2) та зеленої однокошикової форми без антоціану Х1006 (Задорожна, Кириченко, 2008). Насіння гібридної рослини було висіяно на полі наукової сівозміни Інституту рослинництва ім. В.Я.Юр'єва на території дослідного господарства «Елітне» (Харківська обл.) у 2009 році. Посів проводили з відстанню між рядками 70 см та відстанню між рослинами 25 см в рядку. Проаналізували 147 рослин F_2 . В досліді проводили візуальну оцінку рослин, підраховували кількість строкатих і зелених рослин, галузистих і однокошикових, рослин з вмістом антоціану і без нього. Підраховувалась також кількість галузок на строкатих та зелених рослинах, площа світлої плями на листі строкатолистих форм у порівнянні з загальною площею листа з подальшим вираженням у відсотках. Для вимірювання площі світлої плями використовували 12–14 листів з однієї рослини та шкалу квадратних сантиметрів. Обробку результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики (Вольф, 1966).



Рис. 1. Гібридна рослина F_1 з галузками



Рис. 2. Строкатолиста форма соняшника М

Результати та обговорення

За результатами аналізу рослин встановлені такі фенотипові класи рослин: галузисті строкаті з антоціаном, однокошикові строкаті без антоціану, галузисті зелені з антоціаном, однокошикові зелені з антоціаном, галузисті строкаті без антоціану, однокошикові строкаті з антоціаном, галузисті зелені без антоціану, однокошикові зелені без антоціану. Передбачаючи складність успадкування і незалежність вивчених ознак, генетичний аналіз проводили за парами ознак: «галузистість» – «однокошиковість», «зелене забарвлення листків» – «строкатолистість», «наявність антоціану в рослині» – «відсутність антоціану в рослині».

За ознакою «галузистість» в F_2 спостерігали розщеплення 3:1 (табл. 1). В F_1 , як повідомлялось вище, спостерігали домінування галузистості. Це свідчить про те, що ця ознака є моногенною домінантною, що співпадає з даними літератури (Miller, Fick, 1997).

Таблиця 1.

Галузистість рослин соняшнику в популяції гібридів F₂

Кількість досліджуваних рослин	Розщеплення за ознакою галузистості		Значення X ²
	фактичне	теоретичне	
147	111:36:00	110:37 (3:1)	0,04

Результати розщеплення за ознакою «строкатолистість» свідчать про те, що в F₂ не спостерігається розщеплення 3:1 (табл. 2). Тобто успадкування цієї ознаки не співпадає з успадкуванням ознаки, що контролюється геном *var2* у *Arabidopsis thaliana*.

Таблиця 2.

Строкатолистість рослин соняшнику в популяції гібридів F₂

Кількість досліджуваних рослин	Розщеплення за ознакою строкатолистісті		Значення X ²
	фактичне	теоретичне	
147	126:21:00	110:37 (3:1)	9,2
147	126:21:00	120:27 (13:3)	1,6

Результати подальших підрахунків свідчать, що за цією ознакою спостерігається розщеплення 13:3 (табл. 2), що свідчить про дигенну різницю форм, що схрещувались, та епістатичну взаємодію генів. Тобто зелені рослини F₂ мали генотипи 9 A_B_, 3 A_bb, aabb, строкатолисті рослини – генотип aaB_.

P1 строкаті aaBB × P2 зелені AAbb

F₁ зелені AaBb

F₂ 13 зелені (9 A_B_, 3 A_bb, aabb) : 3 строкаті (aaB_)

Таким чином, мутантному гену *a* не дає проявитись рецесивний ген *b*. В розглянутому випадку спостерігається супресія, тобто стримування рецесивної алелі одного гена *a* рецесивною алеллю гена-супресора. Тобто мутантний фенотип обумовлюється рецесивним геном, що проявляється на фоні домінантного супресора, що призводить до розщеплення в F₂: 13 зелених (9 *st+su+*_, 3 *st+susu*, 1 *ststssusu*) та 3 строкаті рослини (*ststsu+*_), де *st+* – нормальне забарвлення листа, *st* – строкате забарвлення листа, *su+* – не заважає прояву строкатого забарвлення листа, *su* – супресор, що стримує прояв гена *st*. Батьківські форми повинні мати генотипи *st+st+susu* для зеленої рослини та *ststsu+su+* для строкатої. Гібрид F₁ – дигетерозигота *st+stsu+su*.

P1 строкаті *ststsu+su+* × P2 зелені *st+st+susu*

F₁ зелені *st+stsu+su*

F₂ 13 зелені (9 *st+su+*_, 3 *st+susu*, 1 *ststssusu*) : 3 строкаті (*ststsu+*_)

У даній роботі ознака строкатолистісті характеризувалась більш детально. Для цього підраховувалась площа світлої плями листа. На типових рослинах в середньому вона складала 52,5% та істотно не відрізнялась у різних досліджених рослин (табл. 3). Міра варіювання цієї ознаки визначалась за критерієм Фішера. Варіювання площі світлої плями на строкатому листі у різних досліджених рослин також істотно не відрізнялось.

У строкатолистих і зелених рослин з подібною висотою підраховувалась кількість бічних гілузок. Середня кількість бічних гілузок для зелених форм становила 13,1 шт., для строкатолистих – 13,3 шт. Це свідчить про те, що строкатолистість не викликає пригнічення цієї ознаки.

При аналізі строкатолистих форм спостерігали карликові рослини (табл. 4), але тільки серед безантоціанових форм.

Таблиця 3.

Прояв світлих плям на строкатих листах

№ рослини	Доля світлої плями на строкатому листі, %	Дисперсія	Критерій Фішера
1	61,4±4,4	78,67	12,2
2	56,5±21,9	962,04	1,28
3	65,1±15,8	750,62	5,16
4	29,9±12,3	450,45	2,3
5	50,1±8,0	194,14	2,4

Таблиця 4.

Строкатолисті рослини з різними фенотиповими ознаками

Ознаки рослини	Кількість карликових рослин, шт.	Кількість нормальних рослин, шт.
Галузиста строката з антоціаном		11
Однокошикова строката без антоціану	6	
Галузиста строката без антоціану	1	1
Однокошикова строката з антоціаном		2

У зв'язку з малочисельністю вибірки складно чітко визначити успадкування, але очевидним є те, що це результат взаємодії генів антоціанового забарвлення або плейотропної їх дії, при наявності яких та мутації строкатолисті рослина досягає нормальної висоти. Слід також відзначити, що серед галузистих строкатолистяних безантоціанових форм спостерігали нормальні і карликові рослини. Таких рослин виявилось всього дві (табл. 4), тому чи впливає наявність галузок на висоту рослин, сказати складно.

В роботі також проведено аналіз за ознакою «антоціанове забарвлення». Аналіз розщеплення також свідчить про наявність взаємодії генів. Можна пояснити, що при схрещуванні строкатолистої форми, яка мала антоціанове забарвлення, із зеленою рослиною, що не мала антоціанового забарвлення, в F_1 отримано зелені рослини, які мали антоціанове забарвлення. При самозапиленні рослини F_1 в F_2 отримано рослини, які за наявністю антоціану давали розщеплення 9:7 (9 з антоціановим забарвленням : 7 без антоціанового забарвлення), що свідчить про комплементарну взаємодію генів (табл. 5). Тобто батьківські рослини були з антоціановим забарвленням – P_1 ($A_1A_1A_2A_2$) та без нього – P_2 ($a_1a_1a_2a_2$), в F_1 рослини були з антоціановим забарвленням і генотипами $A_1a_1A_2a_2$, де A_1A_2 свідчать про наявність антоціану, a_1a_2 – про його відсутність. В F_2 рослини були двох фенотипових класів: з антоціановим забарвленням та без антоціанового забарвлення у співвідношенні 9 (генотип $A_1_A_2_$) : 7 (3 $A_1_a_2a_2$, 3 $a_1a_1A_2_$, $a_1a_1a_2a_2$).

Таблиця 5.

Наявність антоціану у рослин F_2

Кількість досліджуваних рослин	Розщеплення за ознакою галузистості		Значення χ^2
	фактичне	теоретичне	
147	94:53 (9:7)	83:64 (9:7)	3,2

За літературними даними, наявність антоціану може визначатись одним домінантним геном, полімерними генами, двома комплементарними генами та ін. (Тихомирова, 1990; Joshi, Giriraj, 1994). Для соняшнику визначений ген *Ptla*, який контролює антоціанове забарвлення рослини (Joshi, Giriraj, 1994; Гаврилова, Анисимова, 2003). За даними T.Devera та S.Goud (2005), антоціанове забарвлення рослин соняшнику контролюється комплементарною дією генів. В F_2 спостерігали рослини з антоціановим забарвленням стебла, черешків листа, кінчиків листків обгортки кошика та без антоціанового забарвлення у співвідношенні 9:7. Автори припускають, що існує ген з плейотропною дією, що контролює пігментацію (наявність антоціанового забарвлення) стебла, черешків листа,

кінчиків листків обгортки кошика. Дослідники вважають, що плейотропна дія цього гена (позначається *Ptla*) пов'язана з іншими генами. Автори пропонують гени, що контролюють колір стебла, позначити символами *Ptla Psmb*, колір черешків – *Ptla Ptlb*, колір кінчиків листків обгортки кошика – *Ptla Pbtb*. Один з цих генів *Ptla* є спільним для забарвлення стебла, черешків листа, кінчиків листків обгортки кошика. Цей ген діє як основний комплементарний ген, який є відповідальним за експресію забарвлення вищезазначених частин рослин в поєднанні з генами для інших ознак.

Таким чином, одержані нами дані свідчать про те, що антоціанове забарвлення рослин соняшнику, що включає в себе забарвлення стебла, черешків листа, кінчиків листків обгортки кошика, успадковується за типом комплементарної взаємодії, та співпадають з даними T.Devaraja та S.Goud, отриманими на інших формах соняшнику.

Висновки

Таким чином, проведені дослідження успадкування морфологічних ознак строкатолистої форми соняшника в F_2 свідчать, що наявна галузистість дослідженої строкатолистої форми є домінантною моногенною, ознака строкатолистості є рецесивною, прояв якої контролюється геном-супресором. Ознака антоціанового забарвлення рослин контролюється двома генами, фенотиповий прояв яких відбувається завдяки комплементарній взаємодії.

Список літератури

- Ведмедєва К.В. Створення колекції джерел морфологічних маркерних ознак соняшнику і вивчення їх генетичного контролю. Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.15 / Селекц.-генет. ін-т – Нац. центр насінництва та сортовивчення УААН. – О., 2004. – 16с.
- Вольф В.Г. Статистическая обработка опытных данных. – М., Изд-во «Колос», 1966. – 255с.
- Гаврилова В.А., Анисимова И.Н. Генетика культурных растений. Подсолнечник. – Спб.: ВИР, 2003. – 209с.
- Задорожна О.А., Кириченко В.В. Успадкування морфологічних ознак строкатолистої форми соняшника // Вісник Харківського національного університету. Серія біологія. – 2008. – Вип.7, №814. – С. 43–47.
- Калайджян А.А., Хлевной Л.В., Нещадим Н.Н. и др. Российский солнечный цветок. – Краснодар: Совет Кубань, 2007. – 352с.
- Охорона прав на сорти рослин. Офіційний бюлетень. Методика проведення кваліфікаційної експертизи сортів технічних та кормових культур. – Київ, 2003. – Вип.3. – 226с.
- Тихомирова М.М. Генетический анализ. Уч. пособие. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1990. – 280с.
- Шарыпина Я.Ю., Попов В.Н., Кириченко В.В. Наследование некоторых морфологических признаков подсолнечника // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. пр. / Укр.-во генетиків і селекціонерів ім. М.І.Вавилова. За ред. М.В.Поїка. – К.: Логос, 2006. – С. 322–325.
- Briggle L.W. Inheritance of a variegated leaf pattern in hexaploid wheat // Crop Sci. – 1966. – Vol.6. – P. 43–45.
- Devaraja T.V., Goud S. Pleiotropic gene and its influence on stem, petiole and bract tip pigmentation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Helia. – 2005. – Vol.28, №43. – P. 107–112.
- Joshi S.S., Giriraj K. Pleiotropy in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Helia. – 1994. – Vol.20, №26. – P. 1–6.
- Randy & Sherms Plant Collection, Part 4 (<http://community-2.webtv.net/variegated/Plants>)
- Miller J.F., Fick G.N. The genetics of sunflower // In: A.A.Schneider (ed.) Sunflower technology and production. Agronomy monographs. – Madison, WI, 1997. – №35. – P. 441–495.
- Hartl D.L., Jones E.W. Extranuclear inheritance // In: Genetics: principles and analysis. 4 ed. – Jones & Bartlett, Sudbury, MA, 1998. – P. 599–625.
- Chen M., Jensen M., Rodemel S. The yellow variegated mutant of Arabidopsis is plastid autonomous and delayed in chloroplast biogenesis // The Journal of Heredity. – 1999. – Vol.90, №1. – P. 207–214.
- Yue B., Cai X., Vick B., Hu J. Genetic characterization and molecular mapping of chlorophyll deficiency gene in sunflower (*Helianthus annuus*) // Journal of Plant Physiology. – 2009. – Vol.166, №6. – P. 644–651.

Представлено: С.І.Кондратенком / Presented: S.I.Kondratenko

Рекомендовано до друку: О.В.Вінокуровою / Recommended for publishing by: Ye.V.Vinokurova

Подано до редакції / Received: 09.12.2009.

© О.А.Задорожна, 2010
© О.А.Zadorozhna, 2010