

ГЕНЕТИКА

УДК 575.22: 633.854.78

**ГЕНЕТИЧНИЙ КОНТРОЛЬ ОЗНАКИ ВІЯЛОПОДІБНОГО
ЖИЛКУВАННЯ ЛИСТКІВ СОНЯШНИКА**

К. Ведмедєва

*Інститут олійних культур НААН України
вул. Інститутська, 1, с. Сонячне, Запорізька обл. 70417, Україна
e-mail: vedmedeva.katerina@gmail.com*

У нашій колекції ліній, яка включає більше 400 ліній різного походження, було знайдено сім зразків із віялоподібним жилкуванням листка: ВІР130, МВ8, ІnK630, КГ16, ІnK2218, LD835, ІnK1589. В опублікованих іншими дослідниками результатах дослідів встановлено контроль ознаки рецесивними алелями одного або двох генів. Дослідження проводили за схемою класичної генетики. Вирощували за звичайною технологією в польових умовах лінії соняшника, ізолювали, проводили ручну кастрацію, схрещували з іншими лініями. Лінії з віялоподібним жилкуванням листової пластинки були включені до схрещування з лініями зі звичайним жилкуванням. У першому поколінні спостерігали звичайне жилкування. У другому поколінні було отримано два класи рослин: зі звичайним жилкуванням та з віялоподібним у співвідношенні 3:1. Для встановлення ідентичності генетичного контролю ознаки віялоподібного жилкування листків усі лінії з цією ознакою були схрещені між собою. Встановлено під час схрещування ідентичність ліній КГ16 та ІnK1589 за проявом комплексу морфологічних ознак. У першому поколінні від схрещування ліній з віялоподібним жилкуванням не спостерігали рослин зі звичайним жилкуванням. Встановлено, що ознака віялоподібного жилкування обумовлена рецесивним станом одного гена у семи лініях ВІР130, МВ8, ІnK630, КГ16, ІnK2218, LD835, ІnK1589. Для позначення гена, який контролює ознаку віялоподібного жилкування, застосовано символ “vs”, який вже публікувався дослідниками. Ідентифікацію нашого лінійного матеріалу з використаними ними лініями не проводили. У рослинах гібридів першого та другого покоління спостерігали зміну форми крайових квітів на більш звужену та видовжену. Віялоподібне жилкування супроводжувалося сильною або дуже сильною вирізаністю краю листової пластинки. Встановлено, що рецесивний алель “vs” гена, який обумовлює віялоподібне жилкування листка в лініях МВ8, ІnK630, КГ16, LD835, ІnK1589, одночасно обумовлює звуження крайових квіток соняшника та сильну порізаність краю листової пластинки.

Ключові слова: ген, лінія, листки, соняшник, ознака

Листки соняшника – дуже важливий орган, від форми, площі та кількості якого залежить забезпечення існування рослини. Вже відома досить велика кількість морфологічних ознак листків зі встановленим генетичним контролем. Встановлення успадкування форми листків стикається з рядом труднощів, а саме складністю розділення на класи за формою, оскільки листок – це орган соняшника, який зазнає великого впливу зовнішнього середовища. Так вважають В.О. Гаврилова та І.М. Анісімова, які займалися вивченням генетичного контролю форми листка [1]. Під дією світла та вологи збільшуються розміри листка, наявність умов, сприятливих для розвитку грибків, бактерій і вірусів, зумовлює їхній розвиток, який у першу чергу відображається на формі листка.

Дослідженням Д. Шкоріч встановлено, що посилене жилкування обумовлене рецесивними алелями двох генів *vd1* та *vd2* [8]. Я.М. Демурін і В.В. Толмачов доповіли, що віялоподібне жилкування контролюється одним рецесивним геном [2]. Крім цього, шляхом мутагенезу А.І. Сорокою та В.О. Ляхом отримано дві лінії з віялоподібним жилкуванням і встановлено, що ця ознака контролюється в них двома рецесивними алелями різних генів [3]. Крім ознак специфічного жилкування, до форми листка долучаються й інші відомі форми: асиметричності листка, ложкоподібної листкової пластинки, деградації верхівки листка, зубчастості краю листкової пластинки та ін. [6]. Про генетичний контроль деяких із них вже доповідали у результатах наукових досліджень. Зокрема, з нашим авторством були раніше опубліковані результати дослідження про успадкування ложкоподібної листкової пластинки та деградації верхівки листка [4, 5]. Обидві ознаки мали моногенний рецесивний контроль.

У нашій колекції було знайдено сім зразків різного походження з віялоподібним жилкуванням листка. Усі зразки, які підтримуються в колекції Інституту олійних культур НААН, залучають для всебічного вивчення, в тому числі для встановлення генетичного контролю окремих ознак. Тому ми поставили за мету встановити характер успадкування та кількість генів, які обумовлюють ознаку віялоподібного жилкування у нашій колекції.

Матеріали та методи

Дослідження проводили за схемою класичної генетики. Вирощували за звичайною технологією в польових умовах лінії соняшника, ізолювали, проводили ручну кастрацію, схрещували з іншими лініями. Рослини першого покоління на наступний рік ізолювали, самозапильовали й отримували насіння другого покоління, яке висівали на ділянках у кількості 200 насінин. Рослини другого покоління від схрещувань описували за морфологічними ознаками та розподіляли на класи. Достовірність отриманих співвідношень у розщепленнях оцінювали за критерієм Пірсона. Як матеріал до схрещувань були залучені лінії з ознакою віялоподібного жилкування. Це лінії зі встановленим раніше успадкуванням ВІР 130 [2], МВ8 [3] та п'ять не досліджених раніше ліній: InK630, InK1589, LD835, InK2218, КГ16. Форма листка ліній представлена на рис. 1.

Їхній листок мав більшу кількість великих жилок. Листкова пластинка була гофрована завдяки кільком жилкам, які розходилися від основи листка під гострими кутами і створювали віялоподібну пластинку. До того ж спостерігали сильно вирізаний край листкової пластинки. У лінії ВІР 130 жилки були більш схожі на нормальні за положенням. У лінії InK2218 спостерігали відсутність сильних вирізів по краю листкової пластинки, але край не був вирівняний. Останні п'ять ліній мали дуже схожий листок із сильним опушенням. Спостереження кількох років за цими лініями показало, що ознака форми листка мала різну силу прояву в різні роки й у різних умовах, але завжди була досить помітна. На лінії ВІР130 в окремі роки можна було спостерігати прояв жилкування листків бічних гілок більш слабкий, ніж центральної, а на лінії InK630, в умовах іншого року – навпаки. У більшості ліній, крім ВІР130 та InK2218, спостерігали завужені та довгі крайові квітки (рис. 2).

Результати і їхнє обговорення

Лінії з віялоподібним жилкуванням листкової пластинки: ВІР130, InK630, КГ16, InK2218, МВ8 були включені до схрещування з лініями зі звичайним жилкуванням та у схрещування між собою для ідентифікації генів, що контролюють ознаку віялоподібного жилкування. Гібриди першого покоління від схрещування ліній зі звичайним жилкуванням з лініями, які мали ознаку віялоподібного жилкування, мали звичайне жилкування листя.

У другому поколінні спостерігали розщеплення нащадків на звичайні за формою листка рослини та рослини з віялоподібним жилкуванням. У комбінаціях схрещувань:



Рис. 1. Форма листка ліній: зліва направо вгорі: ВІР 130, МВ8, ІпК630, зліва направо внизу: КГ16, ІпК2218, LD835



Рис. 2. Форма крайових квіток ліній: зліва направо вгорі: ВІР 130, МВ8, ІпК630, зліва направо внизу: КГ16, ІпК2218, LD835

ЗЛ169 х ВИР130, Temp1254хInK630, InK630хTemp1254, InK630хMV4, КГ16хЗЛ169, I2K439хI2K2218, I2K2218хI2K439, InK1724хMV8, ВИР130хLD1231-2, КГ16хLD1231-2 було отримано два класи рослин: зі звичайним жилкуванням і з віялоподібним. Останній клас завжди був у меншості, й отримані нащадки другого покоління відповідали співвідношенню 3:1 за критерієм Пірсона (див. таблицю). У розщепленнях від комбінацій схрещувань Temp1254хInK630, InK630хTemp1254, InK630хMV4, КГ16хЗЛ169, InK1724хMV8, КГ16хLD1231-2 у рослинах другого покоління спостерігали звуження крайових квіток разом із наявністю віялоподібного жилкування. Крім того, листки з віялоподібним жилкуванням мали сильно порізаний край листової пластинки. Серед нащадків другого покоління не було виявлено жодної рослини з віялоподібним жилкуванням і нормальною овальною формою крайових квіток, або рослин зі звуженими крайовими квітками та нормальним жилкуванням листків.

Для встановлення генетичної спорідненості лінії з ознакою віялоподібного жилкування листка були схрещені між собою. Отримано нащадки першого і другого покоління таких комбінацій: ВИР130 х LD835, InK2218 х ВИР130, MB8 х LD835, ВИР130 х MB8, InK630 х InK2218, КГ16 х ВИР130. Усі рослини першого та другого покоління мали віялоподібне жилкування. Лінії мали відмінності за іншими ознаками з відомим успадкуванням, а це нам дає підстави стверджувати, що отримано справжні гібриди. Так, лінія ВИР130 характеризувалася наявністю темно-фіолетового забарвлення дискових квіток. У комбінаціях схрещування без антоціанового забарвлення були задіяні лінії з гілкуванням і без нього. Так, у комбінації InK630 х InK2218 перша лінія мала гілкування, а друга була однокошикова. У комбінації MB8 х LD835 – навпаки, материнська лінія була однокошикова, а батьківська мала нижнє гілкування. Наявність у другому поколінні в усіх комбінаціях схрещування розщеплень за іншими морфологічними ознаками забезпечила контроль над здійсненням схрещування.

Успадкування ознаки віялоподібного жилкування листка соняшнику

| Мати/фенотип жилкування | Батько /фенотип жилкування | Фенотип гібридів F2 за ознакою жилкування | | Співвідношення | χ^2 |
|-------------------------|----------------------------|---|--------------|----------------|----------|
| | | Звичайне | Віялоподібне | | |
| ♀ЗЛ169 Звичайне | ♂ВИР130 Віялоподібне | 122 | 45 | 3:1 | 0,34 |
| ♀Temp 1254 Звичайне | ♂InK630 Віялоподібне | 111 | 31 | 3:1 | 0,75 |
| ♀InK630 Віялоподібне | ♂Temp 1254 Звичайне | 60 | 26 | 3:1 | 1,41 |
| ♀InK630 Віялоподібне | ♂MV4 Звичайне | 103 | 34 | 3:1 | 0,02 |
| ♀КГ16 Віялоподібне | ♂ЗЛ169 Звичайне | 158 | 50 | 3:1 | 0,10 |
| ♀I2K439 Звичайне | ♂I2K2218 Віялоподібне | 131 | 35 | 3:1 | 1,35 |
| ♀I2K2218 Віялоподібне | ♂I2K439 Звичайне | 115 | 34 | 3:1 | 0,39 |
| ♀InK1724 Звичайне | ♂MV8 Віялоподібне | 29 | 14 | 3:1 | 1,31 |
| ♀ВИР130 Віялоподібне | ♂LD1231-2 Звичайне | 140 | 49 | 3:1 | 0,09 |
| ♀КГ16 Віялоподібне | ♂LD1231-2 Звичайне | 92 | 28 | 3:1 | 0,18 |

Примітка: $\chi^2_{0,05 (df=1)} = 3,84$

Також було виділено з колекції лінію InK1589 з подібним віялоподібним жилкуванням. За морфологічними ознаками (забарвленням, формою квітів, листків, обгортки, висотою рослин) вона була ідентична з лінією КГ16. Ці дві лінії ми також схрестили для ідентифікації генів, що обумовлюють ознаку віялоподібного жилкування листка, в обох напрямках. Отримані рослини були повністю ідентичні за морфологічними ознаками з материнською та батьківською лініями і навіть не виявили ефекту гетерозису за ознаками висоти, розмірами кошика або іншими у першому поколінні. Це свідчить про повну ідентичність ліній, тобто зразки хоча й мають різні назви, але скоріш за все за генетичним набором є найближчими родичами і походять одна від одної. Загалом усі виділені лінії були ідентифіковані як обумовлені рецесивним алелем одного гена.

У комбінаціях схрещування з ідентифікації за участю ліній ВІР130 та ІпК2218 в розщепленнях можна було спостерігати відмінності у формі краю листкової пластинки та наявності більшої або меншої звуженості крайових квіток, але виділити такі рослини в окремі класи з чіткою градацією нам не вдалося. Тому напевно стверджувати можна лише про наявність одного гена, який контролює віялоподібне жилкування. Можливо, цей ген має і кілька алелів, з яких є такі, що додатково обумовлюють форму краю листкової пластинки та видовженість крайових квіток.

Щодо порівняння встановленого успадкування з інформацією, що вже була опублікована науковцями: Д. Шкоріч [8] було встановлено, що посилене жилкування обумовлене двома рецесивними генами, але В.О. Гаврилова та І.М. Анісімова [1] вважають, що досить складно визначити ознаку посиленого жилкування у розщепленнях другого покоління. У нашій колекції є ще ряд ліній, у яких жилки на листку сильно виділені за рахунок або їхнього збільшення, або світлого забарвлення. Але ці лінії мають звичайну форму листка, і якщо не придивлятися і не порівнювати, то ця ознака малопомітна і відрізняється від віялоподібного жилкування. Крім цього, шляхом мутагенезу А.І. Сорокою та В.О. Ляхом було отримано дві лінії з віялоподібним жилкуванням і встановлено, що ця ознака контролюється в них двома різними генами [7].

У дослідників ВНДЮК віялоподібне жилкування контролюється одним рецесивним геном “vs” [2]. Наша колекція була заснована на зразках соняшнику з ВІРу та ВНДЮК, тому зрозуміло, що наші дослідження підтвердили результати Я.М. Демуріна та В.О. Гаврилової [1,2]. У процесі наукової роботи ми неодноразово спостерігали різний ступінь посиленого жилкування у розщепленнях другого покоління. Крім того, спостереження за самозапиленнями рослин під час створення ліній показало, що неодноразово виникають рослини з дуже сильним жилкуванням, яке супроводжується повною або частковою стерильністю. Такі потомства зазвичай не дають насіння, а рослини мають дуже деградований вигляд (рис. 3).



Рис. 3. Рослина з дуже сильним віялоподібним жилкуванням (самозапилення селекційних номерів)

У наших схрещуваннях в другому поколінні таких сильно деформованих рослин не спостерігалося. Проте в селекційній роботі під час створення ліній у самозапилених потомствах 4–5 поколінь траплялися такі рослини. Вони не залишили по собі насіння для встановлення успадкування цієї ознаки. Крім того, в окремі роки спостерігається поява більш деградованих листків із віялоподібним жилкуванням листків у рослин на вивчених у цьому дослідженні колекційних лініях. Такі рослини бувають практично стерильні й також не дають змоги зберегти і вивчити їх у колекції. Ці рослини зацікавили свого часу вірусологів, які сповістили, що ці рослини мали велику враженість вірусами порівняно зі звичайними рослинами. Але, на жаль, наукової публікації з цього приводу так і не зроблено.

Новим у проведеному нами дослідженні було збирання семи ліній з ознакою віялоподібного жилкування листка та встановлення гене-

тичного контролю ознаки рецесивним алелем одного гена “vs” одночасно у групі ліній. Багаторічні спостереження за цими лініями показали досить великий розмах прояву ознаки в різні роки. Уперше встановлено плейотропний вплив гена “vs” на форму крайових квіток.

Встановлено, що ознака в'ялоподібного жилкування обумовлена рецесивним станом одного гена у семи лініях ВІР 130, МВ8, ІnК630, КГ16, ІnК2218, LD835, ІnК1589.

Визначено генетичну ідентичність ліній КГ16 та ІnК1589 за морфологічними ознаками під час схрещування.

Встановлено, що рецесивний алель “vs” гена, який обумовлює в'ялоподібне жилкування листка в лініях МВ8, ІnК630, КГ16, LD835, ІnК1589 одночасно обумовлює звуження крайових квіток соняшнику та сильну порізаність краю листкової пластинки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гаврилова В. А., Анисимова И. Н. Генетика культурных растений. Подсолнечник. СПб.: ВІР, 2003. 203 с.
2. Демури Я. Н., Толмачёв В. В. Наследование некоторых маркерных признаков подсолнечника. Вопросы прикладной физиологии и генетики масличных культур. Краснодар, 1986. С. 14–19.
3. Сорока А. И., Лях В. А. Особенности наследования жилкования листьев у подсолнечника. Актуальные вопросы биологии, экологии и химии. Розділ Генетика та фізіологія рослин. 2011. Вип. № 2. С. 58–63. http://sites.znu.edu.ua/bio-eco-chem-sci/issues/files/2011/11/45/6619_1320835754_11sailup.pdf
4. Толмачев В. В., Ведмедева Е. В. Генетический контроль некоторых морфологических признаков подсолнечника // 36. наук. праць Ін-ту олійних культур УААН. Запоріжжя, 1999. Вип. 4. С. 27–35.
5. Толмачев В. В., Ведмедева К. В., Солоденко А. Е. Использование рецессивных генов морфологических признаков ДНК-маркеров в семеноводстве подсолнечника // Вісн. ЗГУ. 2014. № 1. С. 45–48.
6. Kovačik A., Škaloud V. Collection of sunflower marker genes available for genetic studies // *Helia*. 1980. N 3. P. 27–28.
7. Soroka A. I., Lyakh V. A. Inheritance of two types of modified leaf venation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Indian. J. Genet.* 2015. №75(1): P.75–78. DOI: 10.5958/0975-6906.2015.00009.7
8. Škorić D. Sunflower breeding. *Sunflower-Monograph*, Nolit, Beograd, 1989. P. 285–393.

Стаття: надійшла до редакції 29.01.18

доопрацьована 16.04.18

прийнята до друку 23.05.18

GENETIC CONTROL OF THE TRAIT FAN-LIKE NERVATION LEAVES IN SUNFLOWER

K. Vedmedeva

*Institute of Oilseed Crops, NAAS of Ukraine
1, Institutaska St., settl. Sonyachny, Zaporizhzhya region 70417, Ukraine
e-mail: vedmedeva.katerina@gmail.com*

The leaves of sunflower – a very important organ from the shape, area and quantity of which depends on the maintenance of the existence of the plant. Setting the inheritance of leaf shapes faces a number of difficulties, namely the difficulty of dividing into classes

by form. In the study of D. Shkorich and it was found that increased venation is due to two recessive genes *vd1* and *vd2*. Demurin Y.M. and Tolmachov V.V. reported that fan-like venation is controlled by one recessive gene. In addition, due to mutagenesis, Soroka AI and Lyakhom VO Two lines with fan-like venom were obtained and it was established that this sign is controlled by two different genes in them. In our collection were found 7 samples of different origins with fan-like vein leaf. We set the goal to determine the nature of the inheritance, the number of genes that determine the sign of fan-like vein in our collection.

The studies were conducted according to the classical genetics scheme. As a material, lines with signs of fan-like venation were involved in cross-breeding. This is a line with previously established inheritance of VIR 130, MV8 and 5 not investigated earlier lines: InK630, InK1589, LD835, InK2218, KG16. Their leaf had an enhanced vein. The sheet plate was coated with several veins that diverged from the bottom of the leaf under sharp angles and created a fan-shaped plate. Until then, the severely cut edge of the leaf blade was observed. In most of the lines, narrow and long edge flowers were observed. Except lines VIR130 and InK2218. Lines with fan-like fluidization of the leaf blade: VIR130, InK630, KG16, InK2218, and MV8 were included in the crossing with lines with conventional leaves. The crossing of lines with the usual leaves with the lines having a sign of fan-like venation in the first generation had no manifestation of fan-like venation.

In the second generation, splitting of plants into conventional plants and plants with fan-like licking were observed. In the combinations of crosses: the ZL169 x VIR130, Temp1254xInK630, InK630hTemp1254, InK630xMV4, KG16xZL169, I2K439hI2K2218, I2K2218hI2K439, InK1724xMV8, VIR130hLD1231-2, KG16hLD1231-2, two classes of plants were obtained: with normal feminine and fan-like. The last class has always been in the minority and the descendants of the second generation corresponded to the ratio of 3: 1 on the basis of Pearson. In the splits from the combinations of Temp1254xInK630, InK630xTemp1254, InK630xMV4, KG16xZL169, InK1724xMV8, KГ16xLD1231-2 in the plants of the second generation, narrowing of the ray flowers was observed along with the presence of fan-like veins. In addition, the leaves with fan-like veins had a very cut edge of the leaf blade. By observation, these signs were not separated in any one offspring of the second generation from the presented crosses.

To establish the genetic affinity of a line with similar leaves was crossed with each other. The descendants of the first and second generation of the following combinations were obtained: VIR130 x LD835, InK2218 x VIR130, MV8 x LD835, VIR130 x MV8, InK630 x InK2218, KG16 x VIR130. All plants of the first and second generation had the leaves with fan-like veins. The lines had differences based on other features with a well-known inheritance, which allows us to assert that getting true hybrids. The line InK1589 with the same the leaves with fan-like veins was also selected from the collection. According to morphological features, it was similar to KG16. We also crossed these two lines for identification in both directions. The resulting plants were completely identical and did not even the effect of heterosis on signs of height, basket sizes or others in the first generation. This indicates the complete identity of the lines. In general, all isolated lines were identified as being due to the recessive allele of one gene.

In the combinations of identification with the participation of the lines VIR130 and InK2218 in the splits, one could observe the differences in the shape of the edge of the leaf blade. But the presence of more or less narrower ray flowers, but to allocate such plants in separate classes with a clear gradation we failed. Possible to assert only the presence of one gene that controls fan-like venation. Perhaps this gene also has several alleles, of which there are those that additionally determine the shape of the edge of the leaf blade and the elongation of the ray flowers.

Keywords: gene, line, leaves, sunflower, trait