

УДК 575.11

## АНАЛІЗ СУМІСНОГО УСПАДКУВАННЯ МАРКЕРНИХ ТА КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК СОНЯШНИКУ

© 2015 р. Я. Ю. Шарипіна<sup>1</sup>, В. М. Попов<sup>1</sup>, В. В. Кириченко<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва  
Національної академії аграрних наук України  
(Харків, Україна)

<sup>1,2</sup>Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва  
(Харків, Україна)

Проведено аналіз сумісного успадкування маркерних та кількісних ознак соняшнику в чотирьох гібридних комбінаціях: Мх1829В × Мх42Б, Мх4В × Мх42Б, Мх1008В × Мх845Б, Мх1008В × Мх522Б. Аналіз групових середніх кількісних ознак дозволив встановити наявність або відсутність сумісного успадкування між ними і морфологічними та біохімічними маркерними ознаками з моногенним контролем. Показано, що наявність генетичної асоціації між геном-маркером та QTL певної агрономічної ознаки залежить від комбінації схрещування та умов року вирощування.

**Ключові слова:** *Helianthus annuus L.*, успадкування ознак, морфологічні та біохімічні маркери

У сучасній генетиці рослин широко використовують різні типи маркерів – морфологічні, біохімічні та молекулярні для вирішення багатьох генетико-селекційних завдань (Сиволап и др., 2011). Соняшник (*Helianthus annuus L.*) належить до рослинних об'єктів з ідентифікованими чисельними типами маркерів, які можна залучати до контролю чистоти вихідного матеріалу та генетичного маркування ознак з полігенним контролем. Так, сформовано колекції соняшнику з ідентифікованими генами контролю морфологічних ознак габітусу рослини, суцвіття та листя (Гаврилова, Анисимова, 2003; Ведмедева, Толмачев, 2006; Попов, Кириченко, 2010). Детально вивчено генетичний контроль біохімічних маркерів соняшнику – запасні білки та ізоферменти (Stopp et al., 1997; Анисимова, 1999; Kirichenko, Popov, 2000; Шарипіна и др., 2006; 2007). Розроблено насичені генетичні карти за різними типами ДНК-маркерів (Tang et al., 2002; Lai et al., 2005; Fusari et al., 2011).

Останнім часом в генетиці соняшнику значна увага приділяється молекулярному аналізу його геному для встановлення зчеплення або асоціації ДНК-маркерів з QTL агрономіч-

них ознак (Bert et al., 2002; 2003; 2004). До молекулярно-генетичного аналізу, як правило, долучають агрономічні ознаки: елементи структури продуктивності, висота рослини, жирнокислотний склад олії, стійкість до біо- та абіотичних несприятливих чинників тощо. Ефективність селекційного процесу набагато підвищується, якщо вдається встановити зв'язок між QTL агрономічних ознак та генами контролю ознак з альтернативною мінливістю (Герновська, 2000).

Аналіз джерел літератури свідчить, що інформація щодо використання морфологічних та біохімічних ознак як генетичних маркерів у соняшнику обмежена. Метою нашої роботи було проведення генетичного аналізу сумісного успадкування ознак соняшнику, що мають дискретну та неперервну мінливість.

### МЕТОДИКА

Як рослинний матеріал використовували чотири гібридні комбінації соняшнику F<sub>2</sub>: Мх1829В × Мх42Б, Мх4В × Мх42Б, Мх1008В × Мх845Б, Мх1008В × Мх522Б. Для їх створення було залучено інбредні лінії, які відрізняються одна від одної за такими морфологічними ознаками: забарвлення крайових квіток (жовте, лимонне, абрикосове, оранжеве), гіллястість стебла (однокошикові та розгалужені рослини), зда-

Адреса для кореспонденції: Попов Віталій Миколайович,  
Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України,  
пр. Московський, 142, Харків, 61060;  
e-mail: vnpop@ukr.net

тність до відновлення фертильності пилку (рослини з фертильними та стерильними трубчастими квітками). За цими ознаками в  $F_2$  відбувалося розщеплення, особливості якого описано нами у попередніх публікаціях (Шарьпина и др., 2008).

Рослини  $F_2$  також було проаналізовано за такими ізоферментними системами: естераза (EST, К.Ф. 3.1.1.1), 6-фосфоглюконат-дегідрогеназа (6-PGD, К.Ф. 1.1.1.44), малікензим (ME, К.Ф.1.1.1.40). Методики екстракції, розподілу ізоферментів та обробки електрофореграм детально описано у попередніх роботах (Kirichenko, Popov, 2000; Шарьпина и др., 2006; 2007).

Фенотипічну оцінку рослин в  $F_2$  проводили за такими кількісними ознаками: висота рослин (см), діаметр кошика (см), довжина та ширина листової пластинки (см), тривалість періоду сходи-цвітіння (ТПСЦ) (дні). Для оцінки фенотипічної мінливості кількісних ознак в  $F_2$  проведено розрахунок таких статистичних параметрів: ліміти абсолютних значень, середнє арифметичне, похибка середнього значення та середнє квадратичне відхилення. Мінливість кількісних ознак вивчали протягом двох років.

Для встановлення сумісного успадкування між маркерними ознаками та ознаками з неперервною мінливістю формували дві групи у відповідності з градаціями ознак з моногенним контролем. Різницю між груповими середніми визначали за критерієм Ст'юдента на рівні статистичної значущості  $p < 0,05$  (Атраментова, Утевская, 2008). Розподіл кількісних даних представлено у вигляді діаграм (коробчастий графік, box-and-whisker), які будували у програмі Statistica 6.0.

## **РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**

Для встановлення генетичної асоціації між маркерними та кількісними ознаками нам вдалося сформуванати вісім груп рослин в  $F_2$  відповідно до градацій морфологічних ознак з моногенним контролем. Так, за якісними морфологічними ознаками були виділені такі групи рослин: з жовтим, абрикосовим, лимонним та оранжевим забарвленням крайових квіток; стерильні та фертильні; однокошикові та гіллясті. Оцінка статистичної значущості різниці між груповими середніми кількісних ознак дозволила встановити наявність або відсутність сумісного успадкування за морфологічними маркерними ознаками з моногенним контролем. Проведений аналіз показав, що виявлені асоціації між ознакою з моногенним контролем та

кількісною ознакою з полігенним контролем зустрічаються рідко та залежать від комбінації схрещування та умов року. Виявлені різноспрямовані генотипні ефекти у різні роки вивчення можуть бути пов'язані з модифікаційною мінливістю кількісних ознак, а також з впливом на їх прояв не тільки головних генів, але й полігенів (Мазер, Джинкс, 1985).

Розподіл кількісних даних представлено тільки для комбінації схрещування  $Mx1829B \times Mx42B$  (рис. 1).

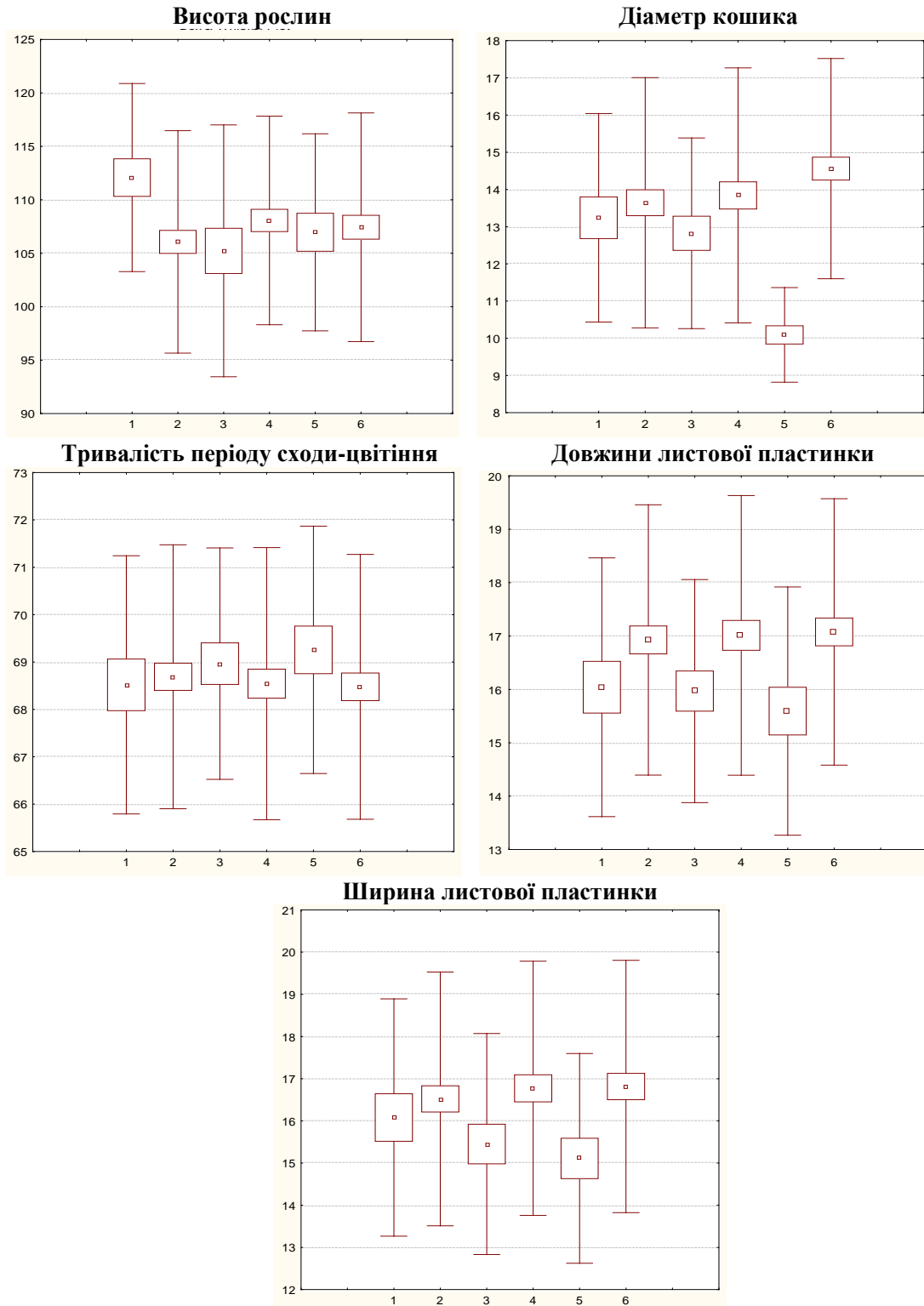
Результати аналізу середніх значень кількісних ознак в групі рослин  $F_2$  з жовтим та іншими градаціями забарвлення квіток показав, що достовірна різниця за два роки вивчення була встановлена тільки за параметрами листової пластинки між групами рослин з абрикосовим ( $15,97 \pm 0,38$  см – 2005 р. та  $15,5 \pm 0,47$  см – 2006 р.) та жовтим забарвленням крайових квіток соняшнику ( $17,0 \pm 0,28$  см – 2005 р. та  $16,9 \pm 0,22$  см – 2006 р.) (комбінація  $Mx1829B \times Mx42B$ ). Різниця середніх значень за висотою рослин ( $87,3 \pm 0,92$  см і  $82,6 \pm 1,76$  см) та діаметром кошика ( $14,7 \pm 0,4$  і  $11,9 \pm 0,61$  см) між групами рослин з жовтим та абрикосовим забарвленням квіток була також статистично значущою, але така тенденція спостерігалася тільки у 2006 році.

Розраховані критерії Ст'юдента свідчать про те що, групи рослин з іншими варіантами забарвлення крайових квіток (лимонні та оранжеві порівняно з жовтими) не відрізнялися істотною відмінністю за висотою рослини, діаметром кошика, довжиною та шириною листка. Тільки в комбінації схрещування  $Mx4B \times Mx42B$  статистична значущість була виявлена між груповими середніми для класів рослин з лимонним та жовтим забарвленням крайових квіток соняшнику лише за тривалістю періоду сходи-цвітіння у 2005 р.

Схожі дані були одержані при аналізі покоління  $F_2$ , отриманого від схрещування ліній з жовтим та оранжевим забарвленням квіток ( $Mx1008B \times Mx522B$ ). Статистична значущість різниці середніх значень між групами рослин, які характеризувалися жовтим та оранжевим забарвленням крайових квіток, була виявлена тільки за діаметром кошика (групи рослин з жовтим та оранжевим забарвленням крайових квіток  $15,7 \pm 0,39$  і  $14,2 \pm 0,53$  см, відповідно).

При розгляді гібридних комбінацій за маркерною ознакою гіллястість стебла було з'ясовано, що в  $F_2$  група однокошикових

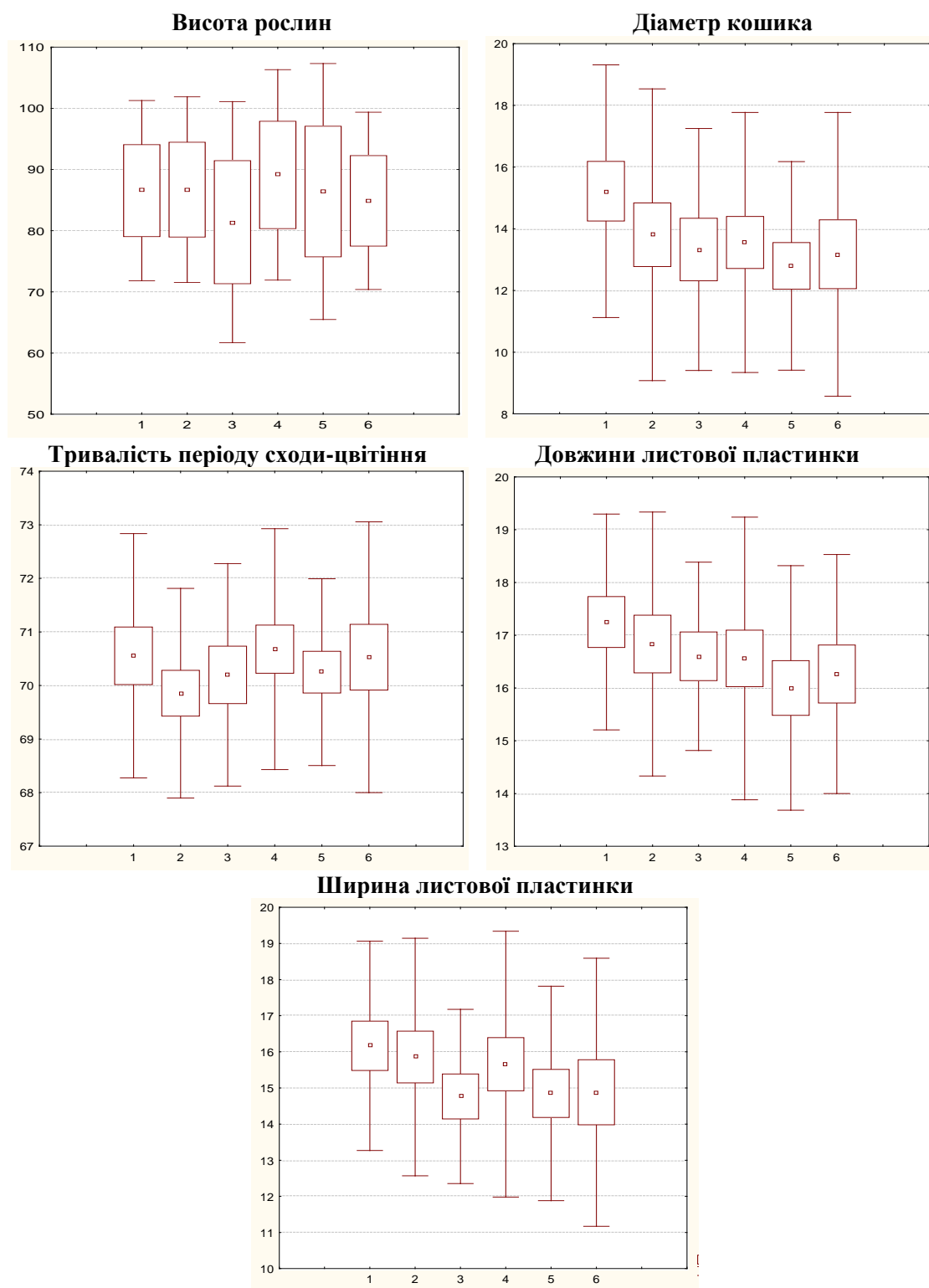
## АНАЛІЗ СУМІСНОГО УСПАДКУВАННЯ



**Рис. 1.** Розподіл кількісних ознак в  $F_2$  на прикладі комбінації схрещування Мх1829В × 42Б за групами, сформованими згідно з градаціями морфологічних ознак.

На діаграмах цифрами показано: 1 – стерильні рослини; 2 – фертильні рослини; 3 – абрикосове забарвлення крайових квіток; 4 – жовте забарвлення крайових квіток; 5 – гіллясті рослини; 6 – однокошикові рослини. Одиниці вимірювання морфологічних ознак в см, а тривалість періоду сходи-цвітіння в днях.

□ – середнє значення; □ – межі похибки середньої; I – середнє квадратичне відхилення.



**Рис. 2.** Розподіл кількісних ознак в F<sub>2</sub> на прикладі комбінації схрещування Mx1829B × 42Б за групами, сформованими згідно з градаціями ферментних систем.

На діаграмах цифрами показано: 1 – алель 1 EST; 2 – алель 2 EST; 3 – алель 1 6-PGD; 4 – алель 2 6-PGD; 5 – алель 1 ME; 6 – алель 2 ME. Одиниці вимірювання морфологічних ознак в см, а тривалість періоду сходи-цвітіння в днях.

□ – середнє значення; □ – межі похибки середньої; I – середнє квадратичне відхилення.

## АНАЛІЗ СУМІСНОГО УСПАДКУВАННЯ

рослин значно переважала над групою гіллястих рослин за діаметром кошика. Ця різниця виявилася статистично значущою для всіх гібридних комбінацій соняшнику. Щодо інших ознак, то отримані дані продемонстрували в трьох комбінаціях статистично значущу різницю між груповими середніми за довжиною листкової пластинки, а у двох – за її шириною. Водночас, у комбінації Мх1008В × Мх522Б не виявлено статистичної різниці між середніми значеннями за цими ознаками. В комбінації Мх4В × Мх42Б за висотою рослин статистичну різницю між груповими середніми відзначено в обидва роки досліджень. Так, середні значення цієї ознаки у 2005 році становили  $122,7 \pm 0,70$  та  $118,5 \pm 1,42$  см у групах однокошикових та гіллястих рослин, відповідно, а у 2006 році –  $100,1 \pm 0,90$  і  $91,7 \pm 1,15$  см, відповідно. В інших комбінаціях схрещування статистично значущу різницю було відзначено тільки в одному році.

Результати порівняння середніх значень кількісних ознак між групами стерильних та фертильних рослин  $F_2$  відрізнялися залежно від розглянутої комбінації схрещування. Так, у гібридній комбінації Мх4В × Мх42Б дві групи рослин  $F_2$ , які сформовані відповідно за градаціями цієї ознаки, майже за всіма кількісними ознаками достовірно відрізнялися, але лише в одному з років. В інших поколіннях  $F_2$  достовірну різницю між груповими середніми було виявлено лише для окремих ознак, наприклад, для комбінації Мх 1008 В × Мх845Б – ширина листкової пластинки ( $15,85 \pm 0,75$  – стерильні та  $17,75 \pm 0,29$  см – фертильні), для Мх1829В × Мх42Б – висота рослин ( $124,3 \pm 1,01$  та  $121,1 \pm 0,78$  см) та тривалістю періоду сходоцвітіння ( $68,8 \pm 0,53$  та  $70,0 \pm 0,22$  днів, відповідно для груп стерильних та фертильних рослин).

Подальші дослідження були зосереджені на вивченні успадкування генів *Me-1*, *6-Pgd-1*, *Est1* та QTL агрономічних ознак. У попередніх роботах нами було з'ясовано, що кожна поліморфна смуга певної ізоферментної системи соняшнику контролюється одним геном (Kirichenko, Popov, 2000; Шарипина и др., 2006). Так, поліморфні смуги ME, 6-PGD та EST перебувають під контролем генів *Me-1*, *6-Pgd-1*, *Est*, відповідно. Надалі було сформовано групи рослин відповідно до наявності певного алеля ізоферментної системи. В усіх досліджених гібридних комбінаціях нами було отримано розщеплення 1:2:1, тобто були виявленні генотипи з повільними (SS) і швидкими (FF) алелями та гетерозиготні генотипи, у яких були присутні обидва алелі (FS). За кожною ізофермент-

ною системою було отримано дві групи, до яких входили рослини з генотипами FF та SS. Для кожної з груп було встановлено середнє значення за висотою рослин, діаметром кошика, довжиною та шириною листкової пластинки, а також тривалістю періоду сходоцвітіння. Встановлення статистичної різниці між груповими середніми кількісних ознак дозволило зробити висновок щодо сумісного успадкування досліджуваних біохімічних та кількісних ознак (рис. 2).

Порівняння середніх значень кількісних ознак між групами рослин, які характеризувалися наявністю алелей FF та SS за анодною естеразою (EST), продемонструвало, що тільки в комбінації схрещування  $F_2$  Мх4В × Мх42Б середні значення за тривалістю періоду сходоцвітіння в групі рослин з генотипом SS перевищують середні значення в групі рослин з генотипом FF ( $52,9 \pm 0,42$  та  $56,0 \pm 0,61$  днів, відповідно). У цій комбінації схрещування статистично значущої різниці між груповими середніми за іншими кількісними ознаками виявлено не було.

Оцінка середніх значень кількісних ознак у групах рослин, відмінних за алелями 6-PGD, показала, що статистично достовірної різниці спостерігалася лише в комбінації Мх1829В × Мх42Б за ознакою висота рослин (група рослин за FF –  $81,4 \pm 2,60$ , група рослин за SS –  $89,1 \pm 1,76$  см).

Результати порівняння середніх значень між групами, сформованими у відповідності до алелів малік-ензиму, показали відсутність статистично значущої різниці між груповими середніми в усіх комбінаціях схрещування.

Таким чином, аналіз поколінь  $F_2$  соняшнику в чотирьох комбінаціях схрещування показав неоднакові ефекти щодо мінливості ознак, які мають альтернативний та неперервний прояв у фенотипі. Характер прояву кількісних ознак у сформованих групах рослин за якісними морфологічними ознаками, можливо, пов'язаний з різними генами, які вносять найбільший вклад у мінливість певної кількісної ознаки. Такі різноспрямовані генотипні ефекти у різні роки вивчення також можуть бути пов'язані з модифікаційною мінливістю кількісних ознак, що ускладнює проведення генетичного аналізу.

## ЛІТЕРАТУРА

Анисимова И.Н. Запасные белки семян подсолнечника: Гетерогенность, полиморфизм, генетиче-

- ский контроль: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: Санкт-Петербург, 1999. – 39 с.
- Атраментова Л.А., Утевская О.М.* Статистические методы в биологии. – Горловка, 2008. – 248 с.
- Ведмедева Е.В., Толмачев В.В.* Генетика морфологических признаков: состояние и перспективы // Генетические ресурсы растений. – 2006. – № 3. – С. 7-22.
- Гаврилова В.А., Анисимова И.Н.* Генетика культурных растений. Подсолнечник. – Санкт-Петербург, 2003. – 204 с.
- Мазер К., Джинкс Дж.* Биометрическая генетика. – Москва: Мир, 1985. – 463 с.
- Попов В.Н., Кириченко В.В.* Мужская стерильность подсолнечника. – Харьков: ИП, 2010. – 156 с.
- Сиволап Ю.М., Кожухова Н.Э., Календарь Р.Н.* Вариабельность и специфичность геномов сельскохозяйственных растений. – Одесса: Астропринт. – 2011. – 336 с.
- Терновская Т.К.* Хромосомная локализация главных генов количественных признаков (QTL) пшеницы с использованием генов-маркеров D хромосом // Цитология и генетика. – 2000. – Т. 34, № 2. – С. 16-23.
- Шарыпина Я.Ю., Попов В.Н., Кириченко В.В.* Полиморфизм и генетический контроль некоторых изоферментных систем у мутантных линий подсолнечника // Цитология и генетика. – 2006. – Т. 40, № 2. – С. 27-33.
- Шарыпина Я.Ю., Попов В.Н., Кириченко В.В.* Анализ сцепления генов, контролирующих ферменты у подсолнечника // Генетика. – 2007. – Т. 43, № 11. – С. 1486-1490.
- Шарыпина Я.Ю., Попов В.Н., Долгова Т.А., Кириченко В.В.* Изучение наследования морфологических признаков подсолнечника. I. Генетический контроль окраски ложноязычковых цветков, ветвистости и фертильности пыльцы // Цитология и генетика. – 2008. – Т. 42, № 5. – С. 47-53.
- Bert P.F., Jouan I., Tourvieille de Labrouhe D., Serre F., Nicolas P., Vear F.* Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) 1. QTL involved in resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Diaporthe helianthi* // Theor. Appl. Genet. – 2002. – V. 105. – P. 985-993.
- Bert P.F., Jouan I., Tourvieille de Labrouhe D., Serre F., Nicolas P., Vear F.* Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) 2. Characterization of QTL involved in developmental and agronomic traits // Theor. Appl. Genet. – 2003. – V. 107. – P. 181-189.
- Bert P.F., Dechamp-Guillaume G., Serre F., Jouan I., Tourvieille de Labrouhe D., Nicolas P., Vear F.* Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) 3. Characterization of QTL involved in resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Phoma macdonaldi* // Theor. Appl. Genet. – 2004. – V. 109. – P. 865-874.
- Cronn R., Brothers M., Klier K., Bretting P.K., Wendel J.F.* Allozyme variation in domesticated annual sunflower and its wild relatives // Theor. Appl. Genet. – 1997. – V. 95. – P. 532-545.
- Fusari C.M., Lia V.V., Nishinakamasu V., Zubrzycki J.E., Puebla A.F., Maligne A.E., Hopp H.E., Heinz R.A., Paniego N.B.* Single nucleotide polymorphism genotyping by heteroduplex analysis in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Mol. Breeding. – 2011. – V. 28. – P. 73-89.
- Kirichenko V.V., Popov V.N.* Genetics of isozymes and analysis of isozymes linkage and morphological loci in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Helia. – 2000. – V. 23, № 33. – P.65-76.
- Lai Z., Livingstone K., Zou Y., Church S., Knapp S.* Identification and mapping of SNPs from ESTs in sunflower // Theor. Appl. Genet. – 2005. – V. 111. – P. 1532-1544.
- Tang S., Yu J. K., Slabaugh M. B., Shintani D.K., Knapp S.* Simple sequence repeat map of the sunflower genome // Theor. Appl. Genet. – 2002. – V.105. – P. 1124-1136.

Надійшла до редакції  
16.01.2015 р.

## АНАЛІЗ СУМІСНОГО УСПАДКУВАННЯ

### ANALYSIS OF LINKAGE BETWEEN MARKERS AND QUANTITATIVE TRAITS IN SUNFLOWER

Ya. Yu. Sharypina<sup>1</sup>, V. N. Popov<sup>1</sup>, V. V. Kirichenko<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*V. Ya. Yuriev Plant Production Institute  
National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine  
(Kharkiv, Ukraine)*

*e-mail: vnpop@ukr.net*

<sup>2</sup>*V. V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University  
(Kharkiv, Ukraine)*

The linkage markers and quantitative traits in four hybrid combinations Mkh1829 × Mkh42, Mkh4 × Mkh42, Mkh1008 × Mkh845, Mkh1008 × Mkh522 was analysed. Analysis of group averages of quantitative traits has allowed us to establish the presence or absence of joint inheritance between their and morphological and biochemical marker traits of monogenic control. It is shown that existence of genetic association between a gene marker and QTL of a particular agronomical trait depends on a combination of crossing and conditions of year of cultivation.

**Key words:** *Helianthus annuus L., inheritance of traits, morphological and biochemical markers*

## АНАЛИЗ СОВМЕСТНОГО НАСЛЕДОВАНИЯ МАРКЕРНЫХ И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Я. Ю. Шарыпина<sup>1</sup>, В. Н. Попов<sup>1</sup>, В. В. Кириченко<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Институт растениеводства им В.Я. Юрьева  
Национальной академии аграрных наук Украины*

*e-mail: vnpop@ukr.net*

<sup>2</sup>*Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева  
(Харьков, Украина)*

Проведен анализ совместного наследования маркерных и количественных признаков в четырех гибридных комбинациях: Мх1829В × Мх42Б, Мх4В × Мх42Б, Мх1008В × Мх845Б, Мх1008В × Мх522Б. Анализ групповых средних количественных признаков позволил установить наличие или отсутствие совместного наследования между ними и морфологическими и биохимическими маркерными признаками с моногенным контролем. Показано, что наличие генетической ассоциации между геном-маркером и QTL определенного агрономического признака зависит от комбинации скрещивания и условий года выращивания.

**Ключевые слова:** *Helianthus annuus L., наследование признаков, морфологические и биохимические маркеры*