

НАСЛЕДОВАНИЕ ПИГМЕНТАЦИИ ЭПИДЕРМИСА У СЕМЯНОК ПОДСОЛНЕЧНИКА

Н.А. ГОРОХИВЕЦ, Е.В. ВЕДМЕДЕВА

Институт масличных культур НААН Украины, Запорожье
E-mail: nadya15g@yandex.ua

*Изучено наследование пигментации эпидермиса в околоплоднике семян подсолнечника. Подтверждено наследование пигментации тремя аллелями – *Ew* (эпидермис, лишенный пигментации), *Estr* (пигментация эпидермиса в виде полос), *Edg* (сплошная пигментация). Установлено доминирование отсутствия пигментации эпидермиса над полосатостью, полосатости над сплошным эпидермисом. Показано, что пигментация эпидермиса в виде полос и наличие панцирного слоя контролируются двумя генами, проявление которых не зависит друг от друга. Обнаружена желтоватая гиподерма у образца I2K2218, которая наследуется моногенно доминантно.*

Ключевые слова: подсолнечник (*Helianthus annuus*), наследование окраски, околоплодник, пигментация эпидермиса, панцирный слой.

Введение. Одним из качественных маркерных признаков, обладающих высокой наследуемостью и яркостью проявления, является окраска семян. Она определяется пигментами в слоях околоплодника – эпидермальном и гиподермальном, а также наличием либо отсутствием панцирного слоя и антоциана в гиподерме [1–3].

В свое время были выделены два основных элемента, которые упростили классификацию семян: присутствие панцирного слоя и наличие полосатости. Прерывистую пигментацию околоплодника использовали как критерий и в других попытках классифицировать генотипы подсолнечника по окраске семян [1, 4].

В отличие от окраски гиподермы и наличия фитомеланина, определение которых невозможно без соскабливания верхних слоев, полосатость эпидермиса отчетливо различима без дополнительных методов оценки.

Эпидермис на поперечном срезе семянки подсолнечника представляет собой внешний однорядный слой клеток. Клетки имеют прямоугольную форму и целлюлозные оболочки, а наружная стенка эпидермиса покрыта кути-

кулярным слоем [5]. Эпидермальные клетки могут быть полностью свободны от пигмента или иметь полосы, являющиеся результатом чередования пигментированных и непигментированных участков слоя. Ширина пигментированной области варьирует от одной полоски до насыщенной пигментации, которая покрывает почти весь слой. Пигменты в эпидермисе определены как внутриклеточные [1, 6].

Наследование полосатости эпидермиса изучалось долгое время учеными разных стран, но к единому мнению по контролю пигментации в этом слое до сих пор не пришли. Так, Mosjidis [6] определил, что отсутствие пигментации в эпидермальном слое контролируется одним геном-ингибитором *II*, а полосатая окраска – серией из трех генов с кумулятивным действием. Генотип *iis₁s₁s₂s₂s₃s₃* определяет легкую полосатость семян, а генотип *iiS₁S₁S₂S₂S₃S₃* – сильную полосатость. Но эти исследования не включали в себя изучение наследования сплошной пигментации эпидермиса.

По данным В.В. Толмачева пигментация эпидермиса контролируется геном, который имеет три аллеля – *Ew* (эпидермис, лишенный пигментации), *Estr* (пигментация эпидермиса в виде полос), *Edg* (сплошная пигментация). Доминирование в ряду аллелей представлено как *Ew*>*Estr*>*Edg*. Вместе с тем предполагается идентичность гена, контролирующего прерывистую пигментацию эпидермиса, у образцов с различным соотношением светлых и темных полос [7].

В результате молекулярных исследований установлено, что четыре локуса отвечают за образование полос на семянке (1, 2, 14, 17-я группы сцепления). Определено, что они не расположены рядом с локусами, контролирующими наличие фитомеланина и белую окраску гиподермы [8].

В силу фрагментарности и противоречивости информации по наследованию пигментации эпидермального слоя требуется углубленное изучение упомянутого признака, а поскольку

он устойчив в проявлении и хорошо различим, то в сочетании с другими качественными характеристиками семянки может использоваться как маркерный для линий и гибридов.

Цель наших исследований – изучить наследование признака окраски эпидермиса семянки у линий подсолнечника ВА1Б, L3465, Л2094-13, КГ13, КР-2, КП-11А, КГ32, InK630, ВИР130, I2K2218, учитывая пигментацию гиподермального и панцирного слоя.

Материал и методы. Работу проводили в 2012–2014 гг. на базе ИМК НААН Украины. Исходный материал включал 10 линий, отличающихся по пигментации эпидермиса семянки, из коллекции подсолнечника лаборатории генетических ресурсов и селекции высокоолеинового и кондитерского подсолнечника. Четыре линии имели сплошную пигментацию эпидермиса семянки (ВА1Б, L3465, Л2094-13, КГ13), четыре линии – пигментацию эпидермиса в виде полос (КР-2, КП-11А, КГ32, InK630) и у двух линий верхний слой околоплодника был лишен пигмента (ВИР130, I2K2218).

Опыты закладывались в полевых условиях. Двурядковые делянки соответствовали схеме посева 70×70 см, в каждом рядке было по 10 гнезд, в одном гнезде оставляли по два растения. Скрещивания проводили с применением ручной кастрации цветков с последующим опылением пылью другого растения по общепринятым методам. Для получения семян F_2 гибридные растения перед цветением индивидуально изолировали и принудительно самоопыляли. Затем анализировали окраску околоплодника первого поколения. Потомство F_2 от самоопыления одного растения высевали отдельной делянкой. При полном созревании отбирали по три семянки из каждого растения. Анализ расщеплений по признаку окраски перикарпия в F_2 проводили по общепринятым методикам. Выделение фенотипических классов в F_2 осуществлялось визуально и с использованием микроскопии. Соответствие фактического расщепления теоретически ожидаемому определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона [9].

Результаты исследования и их обсуждение. При скрининге генотипов подсолнечника нами создана признаковая коллекция, которая включала 13 групп, отличимых по окраске семян. Проведена визуальная оценка каждой из них.

Данная характеристика отличалась от описанных в литературе классификаций [1, 4]. Различные пигментации структурных слоев перикарпия стали критерием для распределения генотипов по группам. В частности, по признаку окраски эпидермиса выделены группы со сплошной пигментацией, а также пигментацией в виде полос и отсутствием пигментации в клетках. Полосатый эпидермис наблюдался в 4-й (черная с серыми полосами семянка), 5-й (черная с белыми полосами), 6-й (черная со светло-коричневыми полосами), 7-й (черная со светло-серыми полосами), 10-й (черная с темно-красными полосами) и 11-й (черная с бурными полосами) группах. Полностью непигментированные клетки эпидермиса были у 12-й (белая) и 13-й (светло-серая) групп, а сплошная пигментация – у 1-й (черные), 2-й (темно-коричневые), 3-й (серые), 8-й (черно-красные), 9-й (черно-бордовые).

В большинстве классификаций подсолнечника по признаку окраски семян пигментацию полос описывают следующим образом: за основную пигментацию принимают ту, которой визуально больше на семянке, а окраска полос занимает меньшие участки. На наш взгляд, такие характеристики могут затруднить изучение наследования пигментации. Ведь в одних случаях полосами указывают окраску эпидермиса, а в других – ту часть семянки, которая не имеет пигмента в нем. Возможно целесообразнее указывать ширину непигментированных участков. В нашей признаковой коллекции по окраске семян за основную пигментацию околоплодника приняты окрашенные участки эпидермиса, а полосами названо окраску, которая просматривается под непигментированными клетками.

В табл. 1 представлен характер наследования полосатости семян у представителей некоторых групп, выделенных нами.

При скрещивании линии 1 группы ВА1Б (черные семянки со сплошной пигментацией эпидермиса) с линией 4 группы КР-2 (черные семянки с серыми полосами) все растения в первом поколении имели серые полосы на семянке. Полосатость эпидермиса доминировала над их отсутствием. Во втором поколении выделены два фенотипических класса: черные семянки с серыми полосами и семянки

без полос в соотношении 3:1, что подтверждено значением χ^2 . Такая же картина наблюдалась в результате обратного скрещивания между группами (4×1). Гибрид КП-11А × L3465 в первом поколении был подобен материнской форме и имел черную с серыми полосами окраску семян. В F₂ расщепление по фенотипу соответствовало схеме 3 (эпидермис в виде полос) : 1 (сплошная пигментация эпидермиса). Полученные данные свидетельствуют о моногенном доминантном наследовании полосатости эпидермиса.

В скрещиваниях КГ32 × Л2094-13 и КГ13 × КР-2 родительские линии отличались не только по признаку пигментации эпидермиса, но и по наличию панцирного слоя в околоплоднике. Для установления независимого наследования этих двух признаков провели генетический анализ (табл. 2). Материнская линия КГ32 (6-я группа) имела светло-коричневые

полосы, была непанцирной. Отцовская линия Л2094-13 (1-я группа) была со сплошной пигментацией эпидермиса и панцирным слоем. В первом поколении все растения имели черные семянки с серыми полосами и панцирным слоем. По визуальному восприятию они не были сходны ни с одной родительской формой. Это является следствием сочетания полосатости эпидермального слоя (унаследованного от материнской линии) и наличия панцирного слоя (унаследованного от отцовской линии). Во втором поколении выделены четыре фенотипических класса по окраске околоплодника семян: черная с серыми полосами, черная, черная со светло-коричневыми полосами, темно-коричневая в соотношении 9:3:3:1. Это свидетельствует о том, что пигментация эпидермиса в виде полос и наличие панцирного слоя контролируются двумя генами, проявление которых не зависит друг от друга.

Таблица 1. Наследование признака пигментации эпидермиса семян подсолнечника

Комбинации скрещивания	Фенотип			Расщепление F ₂ по пигментации эпидермиса		Модель расщепления	χ^2
	P ₁	P ₂	F ₁	полосатая	сплошная		
ВА1Б × КР-2	Сплошная	Полосатая	Полосатая	215	76	3:1	0,19
КП-11А × L3465	Полосатая	Сплошная	Полосатая	105	38	3:1	0,19
КГ32 × Л2094-13	Полосатая	Сплошная	Полосатая	128	53	3:1	1,77
КГ13 × КР-2	Сплошная	Полосатая	Полосатая	181	57	3:1	0,14

Примечание. $\chi^2_{0,05}/k=1/=3,81$.

Таблица 2. Независимое наследование признаков «полосатая пигментация эпидермиса» и «наличие панцирного слоя» в околоплоднике семян подсолнечника

Комбинации скрещивания	Фенотип F ₁	Расщепление F ₂ по пигментации околоплодника				Модель расщепления	χ^2
		панцирные		непанцирные			
		полосатый	сплошной	полосатый	сплошной		
КГ32 × Л2094-13	Полосатый, панцирные	85	42	43	11	9: 3: 3:1	7,12
КГ13 × КР-2	Полосатый, панцирные	127	44	54	13	9: 3: 3:1	2,57

Примечание. $\chi^2_{0,05}/k=3/=7,82$.

В следующем скрещивании в качестве материнской формы взята линия КГ13. Эта линия имеет почти сплошную пигментацию семянки, прерываемую узкими полосами, которые лишены пигмента. Нами установлено, что среди семян этого генотипа со сплошной пигментацией эпидермиса встречались единичные семянки с узкими непигментированными полосами по краю, что наблюдалось даже в пределах корзинки одного растения. Но этот признак не проявлялся на всех семянках, поэтому для удобства подсчета классов во втором поколении пигментацию эпидермиса обозначили как сплошную. Семянки отцовской формы КР-2 были серополосатыми с панцирным слоем. В F_1 все растения имели полосатую пигментацию эпидермиса и фитомеланин в околоплоднике семянки, что свидетельствует о доминировании полосатости семян над сплошной пигментацией, а также наличия панцирности

над ее отсутствием. При анализе расщеплений в F_2 выделены четыре фенотипических класса, которые соответствовали модели 9:3:3:1. Окраски данных генотипов, как и в предыдущей комбинации скрещивания, контролируются экспрессией двух независимых генов. Один ген определяет пигментацию эпидермиса: доминантный аллель устанавливает окраску в виде полос, рецессивный — равномерную сплошную окраску по всей семянке. Второй ген контролирует наличие фитомеланина (доминантный аллель) либо его отсутствие (рецессивный аллель).

Нами также изучалось наследование признака полного отсутствия пигментации эпидермиса (табл. 3 и 4).

В комбинации скрещивания ВИР130 × InK630 растения материнской линии визуально имели белую окраску семян, что обусловлено отсутствием пигмента в эпидермисе, белой ги-

Таблица 3. Наследование признака отсутствия пигментации в эпидермисе

Комбинации скрещивания	Фенотип			Расщепление F_2 по пигментации эпидермиса		Модель расщепления	χ^2
	P_1	P_2	F_1	без пигмента	полосатая		
ВИР130 × InK630	Без пигмента	Полосатая	Без пигмента	90	25	3:1	0,65
InK630 × I2K2218	Полосатая	Без пигмента	Без пигмента	156	48	3:1	0,24

Примечание. $\chi^2_{0,05}/k=1/=3,81$.

Таблица 4. Наследование отсутствия пигментации в эпидермисе и желтого оттенка белой гиподермы в комбинации скрещивания InK630 × I2K2218 (5×12)

Признаки и показатели	Фенотип перикарпия семянки в F_2				Общее число потомков в F_2
	Желтоватые	Белые	Черные с желтоватыми полосами	Черные с белыми полосами	
Эпидермис	Прозрачный		Полосатый		
Гиподерма	Желтоватая	Идеально белая	Желтоватая	Идеально белая	
Фенотип родителей	P_2		P_1		
Фенотип в F_1	F_1				
Фактическое расщепление в F_2	108	48	31	17	204
Ожидаемое соотношение	9	3	3	1	
Теоретически ожидаемое расщепление в F_2	114,75	38,25	38,25	12,75	204

Примечание. $\chi^2=5,67 < \chi^2_{0,05}/k=3/=7,82$.

подермой. Отцовская форма InK630 имела семянки черной окраски с белыми полосами. Гибрид, полученный от скрещивания этих линий, имел белую семянку. Первый слой околоплодника у него был без пигмента. Это свидетельствует о том, что отсутствие пигментации в эпидермисе доминирует над пигментацией в виде полос. Анализ околоплодника семян второго поколения дал возможность выделить два фенотипических класса: семянки без пигментированных клеток эпидермиса и семянки с пигментацией в виде полос. Соотношение отвечало модели 3:1. Таким образом, в этом скрещивании отсутствие пигмента в эпидермисе контролирует один ген.

В следующей комбинации линия InK630 выступала в качестве материнской. Отцовская линия I2K2218, как и линия ВИР130, относилась к 12-й группе, выделенной нами в признаковой коллекции по окраске семян. Но визуально линия I2K2218 не имела идеально белой окраски перикарпия – наблюдался желтый оттенок семян. При проведении анатомических исследований и сравнении окрасок слоев перикарпия родительских форм между собой и с линией ВИР130 установлено, что расхождения в белой окраске семян обусловлены различиями в оттенках гиподермы. Так, линии InK630 и ВИР130 имели непигментированные клетки эпидермиса и идеально белую окраску гиподермы. Поэтому в предыдущей комбинации скрещиваний исходные линии отличались лишь по признаку наличия полос в эпидермальном слое.

У гибрида InK630 × I2K2218 семянки сходны с отцовской линией, имели прозрачный эпидермис и белую гиподерму с желтым оттенком. В расщеплении F₂ по признаку окраски околоплодника выделены следующие классы (9:3:3:1): 1) белые семянки с желтым оттенком (прозрачный эпидермис, желтый оттенок гиподермы); 2) идеально белые семянки (прозрачный эпидермис, белая гиподерма); 3) черные семянки с желтоватыми полосами (полосатая пигментация эпидермиса, желтый оттенок гиподермы); 4) черные семянки с белыми полосами (полосатый эпидермис, белая гиподерма). По результатам гибридологического анализа можно предположить, что в наследовании указанных окрасок принимают участие ген,

контролирующий прозрачность эпидермиса, и ген желтого оттенка гиподермы. Требуются дальнейшие исследования для подтверждения выказанного предположения.

Выводы. Установлено моногенное доминантное наследование полосатости эпидермиса у линий КП-11А, КР-2, КГ32, рецессивное наследование сплошной окраски эпидермиса у линий ВА1Б, L3465, Л2094-13, КГ13, моногенное доминирование отсутствия пигментации эпидермиса над полосатым эпидермисом у линий ВИР130 и I2K2218. Подтверждено наследование пигментации эпидермиса тремя аллелями – *Ew* (эпидермис, лишенный пигментации), *Estr* (пигментация эпидермиса в виде полос), *Edg* (сплошная пигментация). Установлено доминирование отсутствия пигментации эпидермиса над полосатостью, полосатости над сплошным эпидермисом. Пигментация эпидермиса в виде полос и наличие панцирного слоя контролируются двумя генами, проявление которых не зависит друг от друга. Обнаружена желтоватая гиподерма у образца I2K2218, которая наследуется моногенно доминантно по отношению к белой гиподерме в линии InK630.

INHERITANCE OF EPIDERMIS PIGMENTATION IN SUNFLOWER ACHENES

N.A. Gorohivets, E.V. Vedmedeva
Institute of Oilseed Crops,
NAAS of Ukraine, Zaporozhye
E-mail: nadya15g@yandex.ua

Inheritance of epidermis pigmentation in the pericarp of sunflower seeds was studied. Inheritance of pigmentation was confirmed by three alleles *Ew* (epidermis devoid of pigmentation), *Estr* (epidermal pigmentation in strips), *Edg* (solid pigmentation). Dominance of the lack of epidermis pigmentation over striped epidermis and striped epidermis over solid pigmentation was established. It was shown that the striped epidermis pigmentation and the presence of testa layer are controlled by two genes, expression of which is independent from each other. Yellowish hypodermis was discovered in the sample I2K2218, which is inherited monogenically dominantly.

УСПАДКУВАННЯ ПІГМЕНТАЦІЇ ЕПІДЕРМІСУ У СІМ'ЯНОК СОНЯШНИКА

Н.А. Горохивец, К.В. Ведмедева

Вивчено успадкування пігментації епідермісу в оплодні сім'янок соняшника. Підтверджено успадку-

вання пігментації трьома алелями — *Ew* (епідерміс, позбавлений пігментації), *Estr* (пігментація епідермісу у вигляді смуг), *Edg* (суцільна пігментація). Встановлено домінування відсутності пігментації епідермісу над смугастістю, смугастості над суцільним епідермісом. Показано, що пігментація епідермісу у вигляді смуг і наявність панцирного шару контролюються двома генами, прояв яких не залежить один від одного. Виявлено жовтувату гіподерму у зразка I2K2218, яка успадковується моногенно домінантно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pandey, A.K., and Dhakal, M.R. Phytomelanin in compositae, *Curr. Sci.*, 2001, vol. 80, no. 8, pp. 933–940.
2. Denis, L., Coelho, V., and Vear, F. Pericarp structure and hullability in sunflower inbred lines and hybrids, *Agronomie*, 1994, vol. 14, no. 7, pp. 453–461.
3. Leon, A.J., Lee, M., Rufener, G.K., Berry, S.T., and Mowers, R.P. Genetic mapping of a locus (*Hyp*) affecting seed hypodermis color in sunflower, *Crop Sci.*, 1996, vol. 36, no. 6, pp. 1666–1668.
4. Mantese, A.I., Medan, D., and Hall, A.J. Achene structure, development and lipid accumulation in sunflower cultivars differing in oil content at maturity, *Ann. Bot.*, 2006, vol. 97, no. 6, pp. 999–1010.
5. Lindström, L., Pellegrini, C., and Hernández, L. Anatomía y desarrollo del pericarpio del distintos genotipos de girasol (*Helianthus annuus* L.), *Proc. 15th Int. Sunfl. Conf.*, Toulouse, 2000, D13–D18.
6. Mosjidis, J.A. Inheritance of color in the pericarp and corolla of the disc florets in sunflower, *Heredity*, 1982, vol. 73, no. 6, pp. 461–464.
7. Горохивец, Н.А., Ведмедева, Е.В. Наследование панцирного слоя и окраски гиподермы в перикарпии подсолнечника, *Вісн. Харків. ун-ту ім. В.Н. Каразіна*, Сер. Біологія, 2013, вип. 18, сс. 71–75.
8. Yue, B., Cai, X., Yuan, W., Vick, B. and Hu, J. Mapping quantitative trait loci (QTL) controlling seed morphology and disk diameter in sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Helia*, 2009, vol. 32, no. 50, pp. 17–35.
9. Gomez, K.A., and Gomez, A.A. *Statistical procedures for agricultural research*, New York, 1984, 704 p.

Поступила 17.01.15