

## НАСЛЕДОВАНИЕ МАРКЕРНЫХ ПРИЗНАКОВ У РАСТЕНИЙ *LINUM HUMILE* MILL.

А.В. Тигова, А.И. Сорока, В.И. Левченко, Т.А. Таранец

*Институт масличных культур НААН*

**В статье приводится описание характера наследования некоторых маркерных признаков в поколениях  $F_1$  и  $F_2$  мутантных линий льна, полученных под влиянием разных химических мутагенов у двух сортов льна масличного – Айсберг и Солнечный. Подтвержден доминантный моногенный тип наследования мутации «зигзагообразный стебель» у линии МС-22. Подтверждено, что окраска семян льна контролируется полигенно и наследуется по типу доминантного эпистаза. Установлено, что коричневая окраска семян доминирует над желтой и горчичной, а желтая окраска является рецессивной по отношению к горчичной.**

**Ключевые слова:** лен, поколение  $F_1$ , поколение  $F_2$ , расщепление, маркерный признак, мутантная линия, характер наследования, окраска семени, зигзагообразный стебель.

**Введение.** В последнее время в практической селекции многих сельскохозяйственных культур наряду с гибридизацией и отбором всё большее значение приобретает метод индуцированного мутагенеза, с помощью которого в мире создано множество сортов. (Kharkwal et al. 2004; Bahadur et al. 2015). Используя индуцированный мутагенез можно значительно расширить рамки селекционного процесса, построенного на спонтанных мутациях. Задачей индуцированного мутагенеза является увеличение частоты появления растений с улучшенными признаками и получение на их основе новых перспективных сортов. Такие изменения и улучшения могут появляться через прямое использование физического или химического мутагенеза, или не прямое использование мутантной линии или гибрида в качестве родительских форм при скрещиваниях. Большинство зарубежных ученых советует использовать мутанты в качестве родительских компонентов при скрещиваниях (Kharkwal et al. 2001).

Изучение наследования маркерных признаков льна масличного представляет интерес как для теоретических обобщений, так и для решения практических задач, поскольку результативность генетической и селекционной работы в большой степени определяется полнотой информации о генетическом контроле признаков (Lyakh et al. 2009).

Однако в литературе исследований по изучению наследования морфологических признаков льна масличного встречается очень мало. Ученые, изучавшие лен в различных странах, не смогли собрать в своих коллекциях достаточное многообразие признаков. Всего к настоящему времени описано около 130 генов льна, почти половина которых контролирует проявление окраски и формы частей цветка и семян. К сожалению, тесты на аллелизм между ними никогда не проводили и сейчас невозможно сказать, сколько уникальных генов идентифицировано. Изучение наследования большинства хозяйственно ценных признаков, кроме устойчивости к некоторым болезням, выявило только полигенный тип наследования (Arny 1936; Keijzer, Metz. 1993, Rowland, Wilen 1998; Brach 2007; Porokhovinova 2012).

Так, E. Tejklova (2002) при обработке двух линий льна мутагеном ЭМС получила мутацию типа «зигзагообразный стебель». Генетический анализ мутантных линий показал моногенное наследование измененной формы стебля. Аллель мутации «зигзагообразный стебель» доминирует над аллелем дикого типа, определяющего стебель прямого типа. Гомозиготные мутанты имеют зигзагообразный (вьющийся) стебель, гетерозиготные растения согнутые, а стебель гомозиготных рецессивных растений – прямой.

Кроме измененной структуры стебля, четким маркерным признаком является окраска семян. Этот признак уже введен в ряд коммерческих сортов данной культуры. Первые работы по изучению генетического контроля окраски семян были опубликованы в начале развития генетики T. Tammes (1928). Большой вклад в изучение характера наследования окраски семян был сделан в работах F. Plonka (1971), J. Dubois с соавт. (1979), O. Mittapali и G. Rowland (2003), которые провели генетический анализ 6 генов окраски семян. Дальнейшее развитие этот вопрос получил в работе В.О. Ляха с соавт. (2008). В работе Е.А Пороховиной (2012) был описан ряд генов (ген *s1*, ген *sfs1*, ген *pbc3*, ген *pbc1*, ген *fe* и др.), которые определяют окраску семян и гипокотыля, и имеют плейотропное действие.

Целью данной работы было изучить характер наследования некоторых маркерных признаков у мутантных линий льна, полученных под влиянием новых и классических химических мутагенов.

**Материалы и методы исследования.** В отделе генетики и биотехнологии Института масличных культур для получения мутантного исходного материала были использованы новые (ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7 и ДГ-9) и классические (ДМС и ЭМС) химические мутагены. Мутагены серии ДГ являются производными диметилсульфата. В наших опытах использовали некоторые из них (ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9), любезно предоставленные П.Г. Дульневим, – сотрудником Института биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины. В работе использовали два сорта льна масличного – Айсберг и Солнечный. Сорт Айсберг создан методом индуцированного мутагенеза путём обработки гамма-лучами семян сорта Циан в Институте масличных культур (ИМК) НААН Украины. Данный сорт имеет белые лепестки, кремовые пыльники и коричневую окраску семян. Сорт Солнечный, селекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси, отличается низким содержанием (менее 2 %) линоленовой кислоты. У сорта Солнечный цветки голубые с фиолетовым оттенком, голубые пыльники и желтая окраска семян.

Для изучения характера наследования маркерных признаков нами были проведены скрещивания полученных мутантных линий между собой и с контрольными образцами. Изучали такие признаки как зигзагообразный стебель и окраска семян. Гибридные семена  $F_1$  высевали на полевых участках для получения следующего поколения. В  $F_2$  проводили анализ расщепления по указанным признакам. Достоверность соответствия фактических данных теоретическим моделям оценивали по критерию хи-квадрат.

**Результаты исследований и их обсуждение.** При обработке мутагеном ЭМС в концентрации 0,5 % у сорта Солнечный получена мутантная линия МС-22, которая несет в себе мутацию изменения структуры стебля, в результате которой стебель приобретает зигзаго-деформированную форму. Из таблицы 1 видно, что при скрещивании линии МС-22 с контролем все растения имели зигзагообразный стебель, а в  $F_2$  расщепление по фенотипу было в соотношении 3

растения с зигзагообразным стеблем и 1 растение с прямым стеблем. Это свидетельствует о том, что мутантный аллель доминирует над аллелем прямого стебля. Таким образом, исследованный маркерный признак зигзагообразного стебля определяется наличием одного гена, наследуется моногенно и носит доминантный характер.

Таблица 1

**Наследование мутации структуры стебля у льна масличного**

Комбинация скрещивания	Фенотип F <sub>1</sub>	Всего растений, шт.	Фактическое расщепление в F <sub>2</sub>		Модель расщепления	χ <sup>2</sup>
			мутантные	нормальные		
МС-22 × Контроль	Зигзагообразный стебель	306	236	70	3:1	0,74
Контроль × МС-22	- «-	156	120	36	3:1	0,31

Примечание: χ<sup>2</sup><sub>05</sub>=3,84

Кроме того, в результате обработки льна масличного химическими мутагенами у желтосемянного сорта Солнечный были выделены мутанты, у которых окраска семян менялась на коричневую, горчичную и пёструю. Данные маркерные признаки, кроме пестрой окраски семян, четко наследовались в следующем поколении.

Из таблицы 2 видно, что при скрещивании желтосемянного сорта Солнечный с линиями, полученными при обработке химическими мутагенами, которые имеют коричневую окраску семян (МС-4 и МС-32), у гибридов F<sub>1</sub> доминировала коричневая окраска семян, а в F<sub>2</sub> наблюдали расщепление 12:3:1, где 12/16 – растения с коричневыми семенами, 3/16 – с горчичными и 1/16 – с желтыми.

При скрещивании линии МС-16 с горчичной окраской семян с контролем в F<sub>1</sub> доминировала горчичная окраска семян, а в F<sub>2</sub> выделялось 2 фенотипических класса: с горчичной и желтой окраской семян в соотношении 3:1.

Коричневая окраска семян линии МС-4 доминировала над горчичной окраской, свойственной линии МС-16, а в F<sub>2</sub> наблюдали расщепление в соотношении 3 (коричневая) к 1 (горчичная окраска).

Подводя итог результатов исследования расщеплений в F<sub>2</sub> по признаку окраски семян, можно сделать вывод, что имеет место взаимодействие неаллельных генов, которое в большинстве случаев происходит по типу доминантного эпистаза. В результате выделяется два типа окраски – коричневая, и горчичная.

Известно, что признак окраски семян сцеплен с окраской лепестков венчика. Большинство образцов льна с голубой окраской лепестков венчика имеет темную окраску семян, а растения с белой окраской лепестков – светлую.

В результате обработки семян льна химическими мутагенами нами расширен спектр линий, производных от сортов Айсберг и Солнечный, различающихся по окраске семян и цветков. Так, среди бело- и розовоцветковых линий, кроме желтой окраски семян, были выделены образцы с горчичной окраской и разного типа пестрыми семенами.

© А.В. Тигова, А.И. Сорока, В.И. Левченко, Т.А. Таранец

**Наследование окраски семян у мутантов льна масличного**

Фенотип				Всего раст., шт.	Фактическое расщепление в F <sub>2</sub>	Модель расщепления в F <sub>2</sub>	$\chi^2$
Родители		Гибриды					
P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	F <sub>0</sub>	F <sub>1</sub>				
МС-4 коричневая	К желтая	коричневая	коричневая	226	(164) коричневая: (45) горчичная: (17) желтая	12:3:1	0,93
К желтая	МС-4 коричневая	желтая	коричневая	435	(326) коричневая: (79) горчичная: (30) желтая	12:3:1	0,37
МС-32 коричневая	К желтая	коричневая	коричневая	310	(227) коричневая: (62) горчичная: (21) желтая	12:3:1	0,52
К желтая	МС-32 коричневая	желтая	коричневая	189	(143) коричневая: (37) горчичная: (9) желтая	12:3:1	0,75
МС-16 горчичная	К желтая	горчичная	горчичная	185	(135) горчичная: (50) желтая	3:1	0,41
МС-16 горчичная	МС-4 коричневая	горчичная	коричневая	178	(130) коричневая: (48) горчичная:	3:1	0,37

Примечание:  $\chi^2_{05 \text{ df} = 1} = 3,84$ ;  $\chi^2_{05 \text{ df} = 2} = 5,99$

**Выводы**

Подтвержден доминантный моногенный тип наследования признака зигзагообразный стебель у линии МС-22.

Подтверждено, что окраска семян льна контролируется полигенно и в ряде случаев происходит по типу доминантного эпистаза.

Установлено, что коричневая окраска семян доминирует над желтой и горчичной, а желтая окраска является рецессивной по отношению к горчичной.

**Литература**

1. Bahadur B, Venkat Rajam M, Sahijram L, Krishnamurthy K (2015) Induced mutations and crop improvement. Development and organization of cell types and tissues 1: 593-617. DOI: 10.1007/978-81-322-2286-6\_23.
2. Kharkwal MC, Pandey RN, Pawar SE (2004) Mutation breeding for crop improvement. Plant Breeding – Mendelian to Molecular Approaches:601-645.
3. Kharkwal MC, Ahloowalia BS, Maluszynski M (2001) Induced mutations – A new paradigm in plant breeding. Euphytica 118(2): 167–173.
4. Lyakh VA, Polyakova IA, Soroka AI (2009) Induced mutagenesis of oilseeds. Z.: ZNU.
5. Brach NB (2007) Intraspecific flax variety (*Linum usitatissimum* L.) and its use in genetic research and breeding: avtoref. dis. Dr. Bolg. sciences. St. Petersburg.
6. Porokhovina EA (2012) Genetic control of morphological features of seedlings, fruit and seeds in flax (*Linum usitatissimum* L.). Vavilov Journal of Genetics and Breeding, 16 (4/2): 936–947.

7. Rowland GG, Wilen R (1998) New trends in linseed breeding . Processing of the Bast Fibrous: 32–35.
8. Arny AC (1936) Breeding better flax varieties for Minnesota. Proc. of the Minnesota Academy of Science: 29–38.
9. Keijzer P, Metz P (1993) Breeding of flax for Fibre Production in Western Europe. The Biol. and Process. of Flax: 33–66.
10. Tejklova E. (2002) Curlu stem- an induced mutation in flax (*Linum usitatissimum* L.). Czech j. genet. plantbreed 38:125–128.
11. Tammes T (1928) The genetics of the genus *Linum*. Bull. Genet. 4:1–36.
12. Plonka F (1971) La competition polinique ches le Lin cultivate. Ann. de L'amelioration de Plantes, INRA 21(2):179–220.
13. Dubois J, Harborne J, Bablom B, Plonka F (1979) The inheritance of flower colors and anthocyanins in flax (*Linum usitatissimum* L.). Ann. de L'amelioration de Plantes. INRA 29(3):267–276.
14. Mittapali O, Rowland G (2003) Inheritance of seed color in fl ax. Crop. Sci 43:1945–1951.
15. Lyakh VA, Polyakova IA, Yaglo MM (2008) Inheritance of seed color in flax. Bulletin of Agrarian Science 3(659):47-49.

## УСПАДКУВАННЯ МАРКЕРНИХ ОЗНАК У РОСЛИН *LINUM HUMILE* MILL.

А.В. Тігова, А.І. Сорока, В.І. Левченко, Т.А. Таранец

*Інститут олійних культур НААН*

У статті наводиться опис характеру успадкування деяких маркерних ознак в поколіннях  $F_1$  і  $F_2$  у мутантних ліній льону, отриманих під впливом різних хімічних мутагенів у двох сортів льону олійного - Айсберг і Сонячний. Підтверджено домінантний моногенний тип успадкування мутації «зигзагоподібне стебло» у лінії МС-22. Підтверджено, що забарвлення насіння льону контролюється полігенно і відбувається за типом домінантного епістазу. Встановлено, що коричневе забарвлення насіння домінує над жовтим і гірчицим, а жовте забарвлення є рецесивним по відношенню до гірчицим.

**Ключові слова:** льон, покоління  $F_1$ , покоління  $F_2$ , розщеплення, маркерна ознака, мутантна лінія, характер успадкування, забарвлення насіння, зигзагоподібне стебло.

## INHERITANCE OF MARKER CHARACTERISTICS IN *LINUM HUMILE* MILL. PLANTS

A.V. Tigova, A.I. Soroka, V.I. Levchenko, T.A. Taranets

*Institute of Oilseed Crops NAAS*

Nowadays for the practical breeding of many agricultural crops, along with hybridization and selection the method of induced mutagenesis is used. It is becoming increasingly important in the modern world and

contributed already to developing many new varieties. Using induced mutagenesis one can significantly expand the scope of the conventional breeding process based on spontaneous mutations. The task of induced mutagenesis is to increase the frequency of appearance of plants with improved traits and to obtain on their basis new promising varieties. Such changes and improvements can appear through the direct use of physical or chemical mutagenesis, or the indirect use of a mutant line or hybrid as a parental component in crosses. Most foreign scientists tend to advise using mutant accessions as parental samples for crosses.

However, information of the inheritance of the morphological characteristics in oil flax is very limited. Scientists, who studied flax in different countries, could not collect in their collections a sufficient variety of traits. Altogether, about 130 genes in flax have been described, almost half of which being responsible for the manifestation of the color and shape of flower and seed. Unfortunately, tests for allelism between them have never been performed and it is now impossible to say how many unique genes have been identified. The study of the inheritance of most of the economically valuable traits, except for resistance to certain diseases, revealed only a polygenic type of inheritance.

The aim of this work was to study the nature of the inheritance of some marker traits in the mutant flax lines obtained under the influence of new and classical chemical mutagens. In the department of Genetics and Biotechnology of the Institute of Oilseed Crops NAAS there were used new (DG-2, DG-6, DG-7, and DG-9) and classical (DMS and EMS) chemical mutagens to obtain the mutant donor material. Mutagens of DG series are derivatives of dimethyl sulfate. In the current work two varieties of oil flax – Iceberg and Solnechny – were used.

To study the nature of inheritance of marker traits, we carried out crosses of the obtained mutant lines between themselves and with the control samples. We studied such traits as zigzag stem and seed color. F<sub>1</sub> hybrid seeds were sown in the field for the next generation. In the F<sub>2</sub> segregation analysis was performed. The reliability of the correspondence of the actual data with the theoretical models was evaluated by the  $\chi^2$ -test.

It was confirmed the dominant monogenic type of inheritance of the zigzag stem mutation in the MC-22 line. It was confirmed that the color of flax seeds is controlled polygenically and occurs according to the type of dominant epistasis. It was established that the brown color of seeds dominates over yellow and mustard color, and yellow color is recessive with respect to mustard color.

**Key words:** flax, F<sub>1</sub> generation, F<sub>2</sub> generation, segregation, marker trait, mutant line, inheritance pattern, seed color, zigzag stem.