

ИЗУЧЕНИЯ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО ПРОЯВЛЕНИЯ ГОМО-, ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ У ПОДСОЛНЕЧНИКА КОНДИТЕРСКОГО ПО ГЕНАМ ОКРАСКИ ЛИСТЬЕВ И СТОЙКОСТИ К ГЕРБИЦИДАМ ГРУППЫ ИМИДОЗАЛИНОВ

И. А. РАКУЛ – аспирант

Л. О. РЯБОВОЛ – доктор с.-х. наук, профессор

Уманский национальный университет садоводства, г. Умань, Украина

Abstract. The paper presents the results of studies on the phenotypic manifestation of the *imr* gene in sunflower. It was established that the maximum resistance of plants to the herbicide appears when the gene is in the homozygous state only. Plants that are heterozygous showed cleavage. Found that homozygous and heterozygous plants for genome stability phenotypically different. This allows the selection of homozygous forms of sunflower (high resistance to the herbicide Euro Lightning) in color plant leaf surface. For processing plant herbicide, observed teratogenic changes. They are phenotypic and not transmitted by heredity.

Key words: Sunflower, Resistance, Herbicide, Marker signs, Homozygous, Heterozygous.

Реферат. В работе изложены результаты исследований по изучению фенотипического проявления гена *Imr/imr* у подсолнечника кондитерского. Установлено, что максимальная резистентность растений к действию гербицида Евро-Лайтинг проявляется только при наличии доминантного гена в гомозиготном состоянии. Растения, которые показали расщепление, являются гетерозиготными. Установлено, что гомозиготные и гетерозиготные растения с геном устойчивости отличаются фенотипически. Это позволяет проводить отбор гомозиготных форм подсолнечника с высокой резистентностью к гербициду группы имидазолинов по окраске листовой поверхности растений. При обработке растений гербицидом наблюдали тератогенные изменения. Они фенотипические и не передаются по наследству.

Ключевые слова: Подсолнечник, Устойчивость, Гербицид, Маркерные признаки, Гомо-, Гетерозиготность.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы наряду с использованием подсолнечника как основной масличной культуры увеличиваются площади под его кондитерскими сортами, продукция которых является сырьем для производства высококачественной халвы, подсолнечного молочка, козинаков и других изделий. Увеличивается и использование грызового подсолнечника, сегмент рынка которого освоили перерабатывающие компании. Главной особенностью растений кондитерского подсолнечника является высокое содержание белка (более 20%), крупные семена (масса 1000 штук семян более 100 г) и коэффициент шретирования (выход чистого ядра не ниже 0,6 – 0,7) [7].

Одним из важных элементов технологии выращивания подсолнечника является уничтожение сорняков [6].

Производственная система CLEARFIELD, которая используется с 2003 г. во всем мире на подсолнечнике – это комбинация гербицида Евро-Лайтинг, с содержанием действующего вещества класса имидазолинонов (имазапир, имазамокс) и высокоурожайных гибридов, устойчивых к этой группе гербицидов. Евро-Лайтинг имеет системное уничтожающее действие на злаковые сорняки (в том числе амброзия, осот и т.п.), а также и на волчка [4].

Устойчивость к гербицидам подсолнечника определяется геном *Imr/imr* в гомозиготном состоянии. Поэтому в процессе производства гибридного подсолнечника CLEARFIELD необходима конверсия гена устойчивости в мужские и материнские компоненты гибрида.

Семеноводство гибридного подсолнечника требует соблюдения генетической чистоты родительских компонентов и контроля гибридности. Для того, чтобы исключить засоренность семеноводческих посевов целесообразно использовать маркерные признаки, которые помогают идентифицировать не типичные растения на участках размножения исходного материала и гибридизации.

Следует отметить, что морфологические признаки являются эффективной и перспективной маркерной системой контроля чистоты растительного материала на определенных этапах селекционного процесса.

Любой качественный морфологический признак, что фенотипически легко отличается проявление которого не зависит от внешних условий, может быть использован в качестве маркера. У подсолнечника идентифицировано достаточное количество генетически детерминированных морфологических признаков с упрощенным типом контроля. В качестве примера по использованию морфологических признаков, как

маркерной системы, можно привести сцепления наследования гена антоциановой окраски *E* с геном *ms*, который контролирует генетическую мужскую стерильность подсолнечника. Тесное сцепление этих генов позволило в производстве создать первые отечественные гетерозисные гибриды подсолнечника.

Знание локализации и типа наследования генов позволяют селекционерам планировать гибридизационную работу по синтезу форм и соединять желаемые признаки. Информация о наличии или отсутствия сцепления генов определяет объем работы с потомками гибридов и необходимость использования рекомбинационных факторов. С качественных признаков особенно эффективны те, что можно визуально идентифицировать и легко унаследовать, передача которых в материнские и отцовские формы гибридов значительно упростит операции по удалению возможного засорения в процессе семеноводства.

Благодаря генетической устойчивости форм подсолнечника к гербицидам можно ускорить работу по созданию закрепителей стерильности, ведь ген, контролирующий устойчивость служит и маркером. При использовании гербицида идентифицируется гомо-гетерозиготность форм, так как присутствует маркерный признак – устойчивость к препарату. Поэтому нам не нужно проводить дополнительную апробацию (высевать семена на следующий год) для выяснения гомо-гетерозиготности растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Морфологические признаки являются дешевой и перспективной маркерной системой контроля чистоты растительного материала на определенных этапах селекционного процесса. У подсолнечника в качестве генетических маркеров могут использовать различные признаки: окраска лепестков, цветков и соцветий, наличие окраски подсемядольного колена (гипокотилу), высота растений, тип ветвления и т. д. [3].

К. В. Медведевой выявлено положительное влияние гена оранжевого окраса язычковых цветков подсолнечника на некоторые показатели производительности, при этом влияние других аллельных вариантов, обуславливающих светло-желтое и лимонное окраски цветков, не найдено [2].

А. Heesacker использовали группу ДНК-маркеров для маркировки гена лимонного окраса язычковых цветков. Среди всех протестированных маркеров, только для трех было обнаружено сцепленное наследование с геном Yf_1 [1].

Целью работы было установление возможности использования гена *Imr/imr* как маркера с целью определения гомо-гетерозиготности растений по окраске листовой

поверхности после обработки гербицидом Евро-Лайтинг. Для установления влияния доминантного аллеля на уровень устойчивости на опытных участках было проведено гибридизацию неустойчивых форм подсолнечника (компоненты отечественных гибридов) с устойчивыми формами.

В исследованиях использовали закрепители стерильности полученные из сортов Лакомка, Запорожский кондитерский и образцы из Китая (9509/10, 9510/10), которые были скрещены с донорами устойчивости к гербициду Евро-Лайтинг (образцы из США (X9607, X4367, X4607, X4667)).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе работы по созданию исходных материалов подсолнечника с генетической устойчивостью к действию гербицида Евро-Лайтинг наблюдалась смена цвета растений после опрыскивания. В отдельных устойчивых растений цвет изменился на желто-зеленый, а в других – изменение цвета не наблюдалось, растения остались темно-зелеными. Этот факт натолкнул на мысль, что может быть использованная фенотипическая идентификация гомо- гетерозиготности материалов по гену *Imr/imr*. Поэтому было проведено исследование по изучению фенотипического проявления этого гена в созданных материалов подсолнечника.

Растения обрабатывали гербицидом Евро-Лайтинг (1,2 л/га) в фазе двух пар настоящих листьев. Через семь дней после обработки растения менялись. По результатам учетов установлена гибель 25% растений. С 75% материалов, которые имели устойчивость к гербициду Евро-Лайтнинг, только одна четвертая часть не меняла цвет листовой поверхности и имела характерную темно-зеленую окраску, а 50% имели изменённую окраску листовой поверхности – желто-зеленый цвет.

Таким образом, наблюдали фенотипическое расщепления 1:2:1 (устойчивые зеленые гомозиготные по гену устойчивости *ImrImr* растения: стойкие желтовато-зеленые гетерозиготные *Imrimr*: не устойчивы гомозиготные *imrimr* растения). Для подтверждения фенотипического расщепления 1:2:1, было рассчитано χ^2 (табл.1).

1. Расщепления гетерозиготных растений в I_1 по гену *Imr/imr*

Селекционный материал	Количество растений в опыте	Расщепление жизнеспособных растений по окраске листьев		Количество погибших растений	χ^2
		темно-зеленые	желто-зеленые		

Лакомка х X 9607	31	8	16	7	0,093
Запорожский кондитерской × X4367	27	7	14	6	0,106
9509/10 × X4607	25	7	12	6	0,120
9510/10 × X4667	25	6	13	6	0,040

Анализ полученных данных показывает, что $\chi^2_{ф} < \chi^2_{st}$, а это свидетельствует о том, что нулевая гипотеза подтверждена и по окраске наблюдается расщепление 1:2:1.

Все исследуемые растения, были разделены на две группы. В первую группу вошли растения, которые не изменили окраску листьев после обработки гербицидом Евро-Лайтнинг, во вторую группу – растения с измененной окраской листовой пластинки.

Для дальнейшей работы были отобраны 28 растений подсолнечника, у которых окраска листьев после обработки имела темно-зеленый цвет (первая группа) и 55 растений, у которых окраска листьев была желто-зеленая (вторая группа).

На следующий год провели самоопыление материалов. Полученные семена от каждогосамоопыленного растения были отдельно собраны, высеяны и в фазе 2–4 пар настоящих листьев обработаны гербицидом Евро-Лайтнинг в дозе 1,2 л/га.

Через семь суток был проведен анализ действия гербицида на растения. Материалы из первой группы не дали фенотипического расщепления, все растения были резистентными к гербициду и не изменили цвет. Во второй группе растений было выявлено расщепление по фенотипу и устойчивостью на три части в соотношении 1:2:1. Одна часть материалов имеет темно-зеленую окраску листьев, вторая – желто-зеленый, третья часть растений не имела устойчивости к гербициду Евро-Лайтнинг (табл. 2).

2. Расщепление гетерозиготных растений в I₂ по гену Imr/imr

Селекционный материал	Окраска листьев у растений предыдущего поколения		Количество растений в опыте	Расщепление жизнеспособных растений по окраске листьев		Количество погибших растений	χ^2
	темно-зеленый	желто-зеленый		темно-зеленый	желто-зеленый		
Лакомка × X 9607	12	–	352	352	–	–	–

Запорожский кондитерской × X4367	9	–	254	254	–	–	–
9509/10 × X4607	8	–	194	194	–	–	–
9510/10 × X4667	6	–	101	101	–	–	–
Лакомка × X 9607	–	45	450	112	224	114	0,026
Запорожский кондитерской × X4367	–	12	361	89	180	92	0,052
9509/10 × X4607	–	10	299	75	148	76	0,036
9510/10 × X4667	–	9	261	65	129	67	0,070

Анализ данных подтверждает, что $\chi^2_{ф} < \chi^2_{st}$, и подтверждает нулевую гипотезу. Наблюдается расщепление 1:2:1.

По результатам исследований установлено, что растения с темной окраской листьев, дали потомков, которые после обработки не меняли цвет листовой поверхности. Максимальная резистентность растений к действию гербицида проявляется только, когда ген находится в гомозиготном доминантном состоянии. То есть, темно-зеленые растения являются гомозиготами по доминантному гену *ImrImr*. Установлено, что гомозиготные и гетерозиготные растения с геном устойчивости отличаются фенотипически. Это позволяет проводить отбор гомозиготных резистентных форм подсолнечника по окраске листовой поверхности растений.

Необходимо отметить, что в популяциях второго поколения наблюдалось угнетение растений разной степени. В отдельных устойчивых растений выделяли заметное осветление точки роста, деформация верхних пар листьев, прекращение роста центральной почки. Несмотря на это растения продолжали свой рост и развитие. Появление таких особей во втором поколении, указывала на неполное доминирование и возможное наличие генов-модификаторов. Аналогичные изменения подтверждены результатами исследований других ученых [5].

Кроме того, после обработки гербицидом Евро-Лайтнинг у гетерозиготных растений наблюдалась изменчивость по уровню подавления роста и развития растений, а также

тератогенными изменениями. Чаще всего отмечали нарушение роста гетерозигот – наличие ветвления форм которые имели одну корзинку, деформацию центральной корзинки (рис. 1), редукцию центральной корзинки и другое. Такие формирования могут быть модификациями (морфозы) или связанными с воздействием гена-модификатора. Все полученные растения были самоопыленные.

В следующем поколении растения, которые имели фенотипические изменения (ветвление стебля, редукцию корзинок и т.п.) также показали расщепление в соотношении 1:2:1.

Наличие промежуточного фенотипического класса за резистентностью к гербициду связано с неполным доминированием гена *Imr/imr* в гетерозиготном состоянии. Изменчивость по степени угнетения растений, выживших в рамках «желто-зеленого» класса является модификационной и определяется разницей в количестве гербицида, который попал на отдельные особи, и особенностью индивидуального морфофизиологического состояния растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что гомозиготные и гетерозиготные растения по гену устойчивости к гербициду и окраской листьев отличаются фенотипически. Это позволяет проводить отбор гомозиготных форм подсолнечника с высокой резистентностью к гербициду Евро-Лайтнинг по окраске листовой поверхности.

Для получения исходных материалов с генетической резистентностью к действию гербицидов группы имидазолинонов, необходимо проводить бекросирование с целью переноса генов устойчивости от доноров иностранного происхождения в отечественные формы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурлов В. В., Титов С. И. Создание аналогов родительских линий гибридов подсолнечника, устойчивых к имидазолиновой (ИМИ) и трибенуруновой (TRM) групп гербицидов ISSN 0582-5075. Селекция и семеноводство, 2009. Вип. 97. С. 78.
2. Медведёва К. В. Влияние мутации окраски и формы краевых цветков линии подсолнечника на морфобиологические признаки. Генетические ресурсы растений. 2009. №7. С. 150–156.

3. Сигида В. П. Достижения, направления и задачи селекции отдельных полевых культур в Украине: Учебное пособие. Умань, УКВПП. 2009. С. 40.
4. Евро-Лайтинг. Двигатель максимальной рентабельности. BASF, 2007. 4 с.
5. Никитчин Д. И. Масличные культуры. Запорожье: ВКП „Запорожье ”, 1990. 256 с.
6. Бугаев В. Д., Васильковский С. П., Власенко В. А. под ред. Молоцкого М. Я. Специальная селекция полевых культур: Учебное пособие. Белая Церковь, 2010. 368 с.
7. Толмачов В., Лазер П., Бочковой Д. Подсолнух для кондитеров. Зерно, 2010. С. 14–18.