

ШАРИПНА Я.Ю.¹, ПОПОВ В.М.², КИРИЧЕНКО В.В.¹

¹ Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України,
Україна, 61060, м. Харків, проспект Московський, 142, e-mail: myu77@mail.ru

² Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна,
Україна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, e-mail: vnpor@ukr.net

✉ myu77@mail.ru, (096) 209-62-84, (066) 775-65-67

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ УСПАДКУВАННЯ ЖИРНИХ КИСЛОТ СОНЯШНИКУ (*HELIANTHUS ANNUUS L.*)

Накопичення інформації щодо генетики сільськогосподарських культур сприяє успішному селекційному процесу. В останні роки в дослідженнях з генетики соняшнику спостерігається стрімкий прогрес: здійснено ряд робіт з вивчення наявності зчеплення між маркерами (в першу чергу, молекулярними) та генами якісних ознак, які є досить добре вивченими [1–4]. Однак проведено дуже мало досліджень з успадкування генів кількісних ознак соняшнику та їх можливого сумісного успадкування з іншими генами. Активні дослідження в цьому напрямку стримуються, в першу чергу, складністю та труднощістю обліку та аналізу ознак із полігенним контролем.

Генетичний аналіз кількісних ознак є необхідною передумовою ефективного використання різних типів маркерів для визначення сполученої мінливості між ними та локусами кількісних ознак (QTL) з подальшим добром необхідних генотипів [5]. Такий аналіз передбачає визначення типів міжгелельних та міжгенних взаємодій, які здійснюють найбільший внесок у фенотиповий прояв ознаки [6].

Для опису та оцінки таких взаємодій використовують ряд математичних моделей. Найбільш простою з них є адитивно-домінантна, що характеризує відсутність взаємодії між генами, що визначають прояв кількісної ознаки. Саме відповідність їй розглядають в першу чергу у випадку, коли у гібрида першого покоління спостерігається проміжне значення кількісної ознаки у порівнянні з батьківськими формами.

Для визначення відповідності цій моделі зручним та інформативним є розрахунок та оцінка параметрів m , $[d]$, $[h]$ за тестом Каваллі (test Cavalli) [7]. Перевагою цього методу є можливість визначення максимально правдоподібних оцінок параметрів та їх стандартних похибок завдяки залученню до аналізу кількох поколінь

із різними стандартними похибками. Надалі при плануванні схрещувань у разі адекватності адитивно-домінантної моделі можна досить точно прогнозувати майбутній результат.

Якщо отримані результати неможливо описати адитивно-домінантною моделлю, припускають наявність епістатичних ефектів та розглядають модель для 6 генетичних параметрів (m , $[d]$, $[h]$, $[i]$, $[j]$, $[l]$). Наявність епістазу в генетичній системі не дозволяє з високою точністю відокремити адитивні та домінуючі ефекти від епістатичних, однак, надає можливість визначити відносну значущість кожного типу ефектів генів у визначенні кількісної ознаки. Неалельні міжгенні взаємодії потребують уважного вивчення, бо саме вони розглядаються як найбільш вірогідна причина такого важливого селекційного явища, як гетерозис [8]. Тому визначення типів взаємодії генів кількісних ознак має як теоретичне, так і практичне значення.

Однією з найбільш важливих кількісних ознак соняшнику є жирнокислотний склад олії. Так, наприклад, встановлення закономірностей успадкування та створення ліній і гібридів соняшнику з підвищеним вмістом гліцеридів пальмітинової кислоти дозволяє виробляти олію, стійку до окислення і з підвищеною температурою плавлення [9]. Перераховані показники є одними із основних для олійно-жирової промисловості. Олія соняшнику пальмітинового типу за своїми хіміко-біологічними властивостями може успішно конкурувати з пальмовою олією. Однак, незважаючи на актуальність вивчення успадкування жирних кислот соняшнику, існує невелика кількість робіт у цьому напрямку [10–13]. Також, у більшості з них вивчення успадкування кількісної ознаки спрощено до кількох якісних градацій, що не відтворює дійсної картини складної взаємодії кількісних генів. Тому метою нашої роботи було проведення генетич-

ного аналізу успадкування основних жирних кислот соняшнику: пальмітинової, стеаринової, олеїнової та лінолевої.

Матеріали і методи

Як вихідний рослинний матеріал до схрещування було залучено інбредні лінії соняшнику (Мх 1008 В, Мх 845), створені шляхом хімічного мутагенезу з подальшим відбором та багаторазовим інцухтом в лабораторії генетики і селекції соняшнику Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва. Ці лінії є контрастними за якісними та кількісними ознаками. Для вивчення успадкування кількісних ознак було проведено схрещування на фертильній основі, самозапилення під пергаментним ізолятором індивідуальних рослин та отримано популяції F_1 , F_2 та BC_1 за участю кожного з батьків. Гібридизацію здійснювали згідно із загальноприйнятою методикою [14].

Надалі насіння кожної популяції (P_1 , P_2 , F_1 , F_3 , BC_1) проаналізовано за жирнокислотним складом олії. Біохімічний аналіз насіння зразків проведено з індивідуальних насінин згідно з «Методическими указаниями по определению биохимических показателей качества масла семян масличных культур» [15]. Було досліджено по 25 насінин кожного з батьків, 50 F_1 , 75 кожного з BC_1 та 38 кошиків F_2 (самозапилено, проаналізовано по 10 насінин F_3). Отримані

результати дозволили розрахувати середні показники щодо наявності пальмітинової, стеаринової, олеїнової та лінолевої кислоти для кожної популяції.

Відповідність кількісних ознак нормальному розподілу визначали, використовуючи метод порівняння показників асиметрії та ексцесу з їх похибками репрезентативності [16]. Контрастність батьківських форм за жирнокислотним складом олії було підтверджено порівнянням середніх із використанням t – критерію Стьюдента [16]. Стандартні значення критерію (t_{st}) визначали відповідно до розміру кожної вибірки. Об'єднаний тест Каваллі відтворено за описом, наданим у роботі [7].

Результати та обговорення

Із метою дослідження успадкування ознак інбредних ліній соняшнику, залучених до схрещування, спочатку було досліджено на фенотипову однорідність за жирнокислотним складом олії. Перевіркою нормальності розподілу значень кожної з ознак встановлено відповідність закону нормального розподілу відхилень варіант від середнього значення ознаки (перевищення асиметрією та ексцесом своєї похибки репрезентативності у три та більше разів встановлено не було). Також було підтверджено контрастність батьківських ліній за жирнокислотним складом олії (табл. 1).

Таблиця 1. Оцінка різниці середніх значень за жирнокислотним складом олії у батьківських форм

Генерація	Пальмітинова кислота, %	Стеаринова кислота, %	Олеїнова кислота, %	Лінолева кислота, %
P 1	9,13±0,56	0,63±0,037	11,99±0,56	78,24±0,37
P 2	4,5±0,09	0,74±0,03	14,13±0,35	80,62±0,37
t	8,16	-2,31	-3,24	-4,55

Примітка: $t_{st} = 2,01$.

Першим етапом генетичного аналізу кількісних ознак соняшнику з використанням тесту сумісного шкалювання була перевірка відповідності дії генів адитивно-домінантній моделі. У результаті проведених підрахунків встановлено, що в цьому схрещуванні не спостерігалася відповідність адитивно-домінантній моделі (значення χ^2 перевищували стандартні при $df=3$) (табл. 2), тобто вона не підходить для описання фенотипових відмінностей між батьківськими формами гібрида.

Зважаючи на попередні результати, найбільш повну інформацію про генетику жирно-

кислотного складу олії соняшнику можна отримати шляхом підрахунку моделі для 6 параметрів. У цьому випадку можна розглянути просту модель, визначивши характер взаємодії між двома генами. Висновки про неалельну взаємодію генів робили зі значущості генетичних параметрів $[h]$, $[i]$, $[j]$, $[l]$. Класифікацію ефектів генів встановлювали в тому випадку, якщо параметр достовірно відрізнявся від нуля.

Підрахунком шести параметрів було встановлено наявність епістатичної взаємодії генів для пальмітинової, олеїнової та лінолевої кисло-

ти, про що свідчить значущість параметрів $[h]$, $[i]$, $[j]$, $[l]$ (табл. 2).

Обчислені значення параметрів демонструють, що, залежно від розглянутої кислоти, ефекти генів виявилися різними. Так, за пальмітиновою та олеїновою кислотою встановлено дуплікатний тип епістазу, про що свідчать значущість параметрів $[h]$, $[l]$ та протилежність їх знаків. Дуплікатний епістаз діє за наявності хоча б одного алеля у локусі, який заставляє другий локус працювати за домінантним ти-

пом [17]. Параметр $[h]$ мав позитивний знак для пальмітинової кислоти, що свідчить про однонаправлене домінування за усіма або деякими генами, які контролюють ознаку, тобто домінантні гени діють у напрямку збільшення абсолютного значення ознаки. Водночас для олеїнової кислоти параметр $[h]$ мав негативний знак, що свідчить про зменшення значення ознаки під впливом домінантних генів (спостерігається негативне домінування).

Таблиця 2. Оцінка ефектів генів кількісних ознак соняшнику для шести генерацій (моделі для 3 та 6 параметрів)

Генетичні параметри	АД модель 3 параметри	6 параметрів	АД модель 3 параметри	6 параметрів
	Пальмітинова кислота		Стеаринова кислота	
m	8,41±0,17	-5,22±1,68	0,96±0,02	3,22±0,31
$[d]$	3,83±0,19	2,36±0,28	-0,02±0,02	-0,06±0,02
$[h]$	-2,36±0,26	39,65±4,97	0,19±0,04	0,66±0,83*
$[i]$		12,08±1,65		-2,54±0,31
$[j]$		3,36±1,69		-0,70±0,24
$[l]$		-28,78±3,31		-3,17±0,53
χ^2	106,98		1856,6	
		Дуплікатний епістаз		Тип не визначено*
	Олеїнова кислота		Лінолева кислота	
m	16,68±0,30	54,71±2,93	75,52±0,24	48,05±2,91
$[d]$	0,22±0,31	-1,10±0,33	-0,10±0,25	-1,19±0,26
$[h]$	-1,33±0,37	-59,55±7,64	1,01±0,35	16,94±7,50
$[i]$		-41,66±2,92		31,38±2,90
$[j]$		-2,51±2,24		-0,79±2,15
$[l]$		18,94±4,80		14,56±4,70
χ^2	989,62		1803,3	
		Дуплікатний епістаз		Компліментарний епістаз

Примітки: $\chi^2_{\text{теор.}} = 5,99$; * – тип взаємодії неможливо визначити у випадку, коли параметри $[h]$ або $[l]$ не є достовірними (не перевищують свою подвоєну похибку); епістаз вважають відсутнім при недостовірності 4 параметрів $[h]$, $[i]$, $[j]$, $[l]$.

Щодо лінолевої кислоти, то було встановлено, що ефект взаємодії генів був обумовлений компліментарним епістазом (параметр $[h]$ та $[l]$ були позитивними), тобто, за наявності гомозиготних рецесивних локусів вони підпорядковують собі інші домінантні локуси [17].

Для стеаринової кислоти контроль ознаки встановити було неможливо, оскільки параметр $[h]$ достовірно не відрізнявся від нуля.

Зауважимо, що компліментарний епістаз у випадку, коли рецесивні гени підвищують значення ознаки, є важливе значення для селекції.

Якщо відбір іде за адитивними локусами, ознака досить швидко (залежно від кількості локусів) досягає межі, далі відбір уже не є результативним. Водночас при компліментарному епістазі гомозиготизація рецесивних локусів відбувається поступово, тому ознака довго зростає, дотримуючись напрямку відбору.

Висновки

У результаті розрахунку моделі кількісних ознак соняшнику за 3 параметрами було встановлено, що в розглянутій гібридній комбі-

нації ступінь прояву вмісту пальмітинової, стеаринової, олеїнової, лінолевої кислот соняшнику не зумовлений адитивно-домінантними генетичними ефектами. Розгляд моделі за 6 параметрами підтвердив наявність епістатичних ефектів. Виявлено різноспрямовану дію генів, що

приводить до збільшення або зменшення фенотипового прояву ознаки. Цей факт свідчить про те, що, залежно від спрямування селекційного процесу, існує можливість підбору оптимальних батьківських пар для створення гібридів соняшнику з різним жирнокислотним складом олії.

Література

1. Гаврилова В.А., Анисимова И.Н. Генетика культурных растений. Подсолнечник. – СПб.: ВИР, 2003. – 209 с.
2. Шарипіна Я.Ю., Попов В.Н., Кириченко В.В. Анализ сцепления генов, контролирующих ферменты у подсолнечника // Генетика. – 2007. – Т. 43, № 11. – С. 1486–1490.
3. Chen J., Hu J., Vick B., Jan C. Molecular mapping of a nuclear male-sterility gene in sunflower (*Helianthus annuus* L.) using TRAP and SSR markers // Theor. Appl. Gen. – 2006. – V. 113. – P. 122–127.
4. Mokrani L., Gentzittel L., Azanza F., Fitamant L., Al-Chaarani G., Sarrafi A. Mapping and analysis of quantitative trait loci for grain oil content and agronomic traits using AFLP and SSR in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Theor. Appl. Gen. – 2002. – V. 106. – P. 149–156.
5. 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. 16–24.
6. Leon A., Lee M., Andrade F. Quantitative trait loci for growing degree days to flowering and photoperiod response in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Theor. Appl. Genet. – 2001. – V. 102. – P. 497–503.
7. Mather K., Jinks J.L. Biometrical genetics. – London, 1971. – 382 p.
8. Тарутіна Л.А., Хотылева Л.В. Взаимодействие генов при гетерозисе. – Минск: Навука і техника, 1990. – 176 с.
9. Брагін О.М. Створення вихідного матеріалу та гібридів соняшнику з підвищеним вмістом гліцеридів пальмітинової кислоти в олії: автореф. дис. на здобуття ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція рослин». – Харків, 2010. – 20 с.
10. Fernández-Martínez J., Jimenez A., Dominguez J., Garcia J., Garcés R., Mancha M. Genetic analysis of the high oleic acid content in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Euphytica. – 1989. – V. 41, Is. 1. – P. 39–51.
11. Miller J.F., Vick B.A. Registration of three low palmitic acid and five low stearic acid sunflower genetic stocks // Crop Sci. – 1999. – V. 39. – P. 305.
12. Vick B.A., Jan C.C., Miller J.F. Two-year study on the inheritance of reduced saturated fatty acid content in sunflower seed // Helia. – 2004. – V. 27, Is. 41. – P. 25–40.
13. Рйез-Віч В., Гарсіс Р., Фернандез-Мартінез Ж.М. Inheritance of medium stearic acid content in the seed oil of a sunflower mutant CAS-4 // Crop Sci. – 2002. – V. 42. – P. 1806–1811.
14. Частная селекция полевых культур / Под ред. е-й Ю.Б. Коновалова – М.: Агропромиздат, 1990. – 544 с.
15. ДСТУ 10857-64 Насіння олійне. Методи визначення олійності. Визначення складу жирних кислот в олії проводиться методом газорідинної хроматографії.
16. Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии. – Горловка, 2008. – 248 с.
17. Кочерина Н.В. Алгоритмы эколого-генетического улучшения продуктивности растений: дис... канд. биол. наук: 03.00.15. – Санкт-Петербург, 2009. – 130 с.

SHARYPINA Y.Y.¹, POPOV V.M.², KIRICHENKO V.V.¹

¹ The Plant Production Institute nd. a. V.Ya. Yuryev of NAAS, Ukraine, 61060, Kharkiv, Moskovsky ave., 142, e-mail: myu77@mail.ru

² V.N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine, 61022, Kharkiv, Svobody sq., 4, e-mail: vnpop@ukr.net

GENETIC ANALYSE OF FATTY ACID INHERITANCE IN SUNFLOWER (*HELIANTHUS ANNUUS* L.)

Aim. The definition of some peculiarities of inheritance of fatty acid content in the seed oil of the source material and the creation of sunflower lines and hybrids with improved quality of oil composition and economic traits' complex is an important issue. **Methods.** The genetic control of palmitic, stearic, oleic, linoleic fatty acids of sunflower with the use of the joint scaling test (the test Cavalli) has been studied. To establish the type of genes' interaction the model with 3 and 6 genetic parameters is applied and for their estimation in the analysis there are involved the average data of traits on 6 generations. **Results.** It has been shown that the additive-dominant model has not proved to be true in case of fatty acids inheritance. It was possible to reveal an interaction between genes by duplicate epistasis type for palmitic and oleic acids, complementary epistasis type – for linoleic acid. The interaction type was not possible to establish as some model parameters have insufficient resolving power for stearic acid. **Conclusions.** Discovered differently directed effect of genes, which leads to increase or decrease the phenotypic manifestation of traits. Therefore it is possible the selection of optimal breeding pairs to create sunflower hybrids with different fatty acid composition of the oil.

Keywords: *Helianthus annuus* L., test Cavalli, inheritance, fatty acids.