

УДК 633.854.78:631.523

ДВУТЕСТЕРНЫЙ МЕТОД В ИЗУЧЕНИИ ГЕНЕТИКИ ПРИЗНАКА КОЛИЧЕСТВО СЕМЯНОК С КОРЗИНКИ У МЕЖЛИНЕЙНЫХ ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА

В.В. Волгин,
доктор сельскохозяйственных наук
А.Д. Обыдало,
младший научный сотрудник

ФГБНУ ВНИИМК
Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17
Тел.: (861) 254-29-29
E-mail: vniimk@vniimk.ru

Для цитирования: Волгин В.В., Обыдало А.Д. Двутестерный метод в изучении генетики признака количество семян с корзинки у межлинейных гибридов подсолнечника // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2017. – Вып. 1 (169). – С. 26–30.

Ключевые слова: подсолнечник, линии, гибриды, наследование, количество семян, эпистаз, доминирование, аддитивное взаимодействие генов.

Изучали наследование признака количества семян с корзинки у межлинейных гибридов подсолнечника на ЦМС-основе. Опыты проводили в 2012–2014 гг. на полях центральной экспериментальной базы ФГБНУ ВНИИМК, г. Краснодар. Объектами исследования служили десять фертильных линий подсолнечника, тестерами – две ЦМС-формы (линия и простой гибрид на ЦМС-основе), отличающиеся низким и высоким проявлением изучаемого признака соответственно. В 2012 г. были выращены семена 20 гибридов изучаемых линий с двумя тестерами, и в 2013 и 2014 гг. эти гибриды и их родительские компоненты выращивались в полевых условиях на 4-рядных делянках площадью 24,5 м² в 3-кратной повторности. На основании результатов двутестерного анализа родительских форм и их гибридов сделан вывод об отсутствии эпистаза в генетическом контроле признака количества семян с корзинки. Основную роль в наследовании этого признака у межлинейных гибридов подсолнечника играют аддитивное взаимодействие генов

и доминирование. Для улучшения изученного нами селекционного материала подсолнечника, целесообразно использовать методы периодического отбора на ОКС, конвергентное улучшение и кумулятивную селекцию.

UDC 633.854.78:631.523

A double-tester method in studying of genetics of a trait seeds amount per a head in sunflower interline hybrids.

Volgin V.V., doctor of agriculture
Obydalo A.D., junior researcher

FGBNU VNIIMK
17, Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia
Tel.: (861) 254-29-29
E-mail: vniimk@vniimk.ru

Key words: sunflower, lines, hybrids, inheritance, oil content of seeds, epistasis, dominance, additive gen interaction.

Inheritance of a trait seeds amount per a head at sunflower interline CMS-hybrids was studied. Tests were conducted on fields of All-Russia research institute of oil crops, Krasnodar, in 2012–2014. The objects of the research were ten fertile sunflower lines, as testers were used two CMS-forms (line and a simple CMS-hybrid) which are differed with a low and high display of the studied trait, respectively. Seeds of 20 hybrids of the studied lines and two testers were produced in 2012; in 2013 and 2014 these hybrids and their parental lines were cultivated in fields, in four-row plots with a square 24.5 sq. m, in three repetitions. The results of the double-tester analysis of parental forms and their hybrids allowed concluding the absence of epistasis in a genetic control of the trait seeds amount per a head. An additive gen interaction and dominance play the main role in this trait inheritance in the interline sunflower hybrids. To improve the studied sunflower breeder seeds it is reasonable to use the methods of recurrent selection for a common combining ability, convergent improvement and cumulative breeding

Введение. Основными признаками, на которые ведется селекция подсолнечника, являются урожайность и масличность семян. Урожайность семян определяется рядом факторов: количеством семян с корзинки, массой 1000 семян, густотой стояния растений на площади посева, на которые, в свою очередь, влияют поч-

венные и погодные условия выращивания.

Исследований, связанных с изучением наследования признака количество семян с корзинки сравнительно немного [1].

Количество семян с корзинки определяется числом трубчатых цветков, степенью автофертильности, аттрактивностью для опылителей и факторами окружающей среды во время цветения и опыления.

В опытах D. Skoric [2], R. Marincovic [3], A. El-Hosary et al. [4] и A. Taklewold et al. [5] количество семян с корзинки оказывало положительное влияние на их урожайность. Однако в исследованиях A. Merrien et al. [6] такая закономерность не подтверждена.

В опытах N. Hladni et al. [7] эффект гетерозиса к средней величине родительских форм по числу семян с корзинки находился в пределах 69,6–203,7 %, а к высокоурожайному родителю – 47,6–183,3 %. N. Hladni [8] в своих исследованиях также выявила положительный гетерозис по изучаемому признаку во всех комбинациях гибридов F_1 в течение двух лет.

M. Chaffart et al. [9] отметили, что число семян с корзинки контролируется аддитивными и доминантными взаимодействиями генов. Противоположные результаты были получены A. Kovacic et al. [10], N. Rao et al. [11], R. Marinkovic [12,3], A. Kumar et al. [13] и A. Goksoy et al. [14], которые установили, что неаддитивный компонент генетической вариации вносит наибольший вклад в наследование признака числа семян с корзинки. К аналогичному выводу пришла N. Hladni [8], которая это определила по соотношению эффектов ОКС/КС в первом гибридном поколении.

Таким образом, полученные результаты имеют противоречивый характер, что, по-видимому, зависит от генотипа вовлеченных в гибридизацию родительских линий и в случае полигенного (аддитивного) наследования может также определяться условиями произрастания растений подсолнечника. Учитывая, что в последние годы во ВНИИМК созданы

новые линии подсолнечника, отличающиеся высокой комбинационной способностью по ряду хозяйственно-биологических признаков, целью наших исследований явилось изучение наследования количества семян с корзинки у гибридов F_1 с использованием таких линий.

Материалы и методы. Опыты проводили в 2012–2014 гг. на полях центральной экспериментальной базы ФГБНУ ВНИИМК, г. Краснодар.

В качестве тестеров использовались: стерильный аналог линии ВА 93 и стерильный простой гибрид на основе ЦМС Кубанский 93 в 2012 г. Опыление проводилось под изоляторами типа «рукав» пылью каждой из десяти отцовских линий: СЛ₁₃2310, СЛ₁₃3854, ВК654, СЛ₀₅16, СЛ₁₃2196, СЛ₁₃2272, СЛ₁₃3870, СЛ₁₃2286, СЛ₁₃2260 и СЛ₁₃2266. Все изученные нами отцовские линии обладают высокой или средней комбинационной способностью по признаку урожайности семян. Среднее количество семян у материнских линий ВА93 составляет 722 шт./корзинку, а у гибрида ЦМС Кубанский 93 – 974 шт./корзинку.

В 2013 и 2014 гг. гибриды, полученные в 2012 г., и их родительские формы выращивались в полевых условиях на четырехрядных делянках площадью 24,5 м³ в трехкратной повторности, густота стояния растений составила 55–60 тыс. шт./га.

Количество семян с корзинки определялось по общепринятой методике [15].

Достоверность различий между вариантами опыта ($НСР_{05}$) вычисляли методом дисперсионного анализа в изложении Б.А. Доспехова [16].

Наследование признака количество семян с корзинки определяли методом двутестерного анализа по методике, предложенной J.L. Jinkset et al. [17]. Этот метод в генетике количественных признаков позволяет сократить количество скрещиваний, равное n^2 , при диаллельном анализе до $2n$.

Метод был проверен авторами на чистых линиях табака, которые предварительно испытывали классическим диаллельным анализом. При сопоставлении результатов обоих методов оказались идентичными.

Сущность двутестерного метода сводится к следующему. Две тестерные линии L_1 и L_2 отбирают из совокупности анализируемых сортов. Тестеры желательнее брать максимально контрастными по изучаемому признаку. Каждую линию (i) скрещивают с двумя тестерами, при этом получают гибриды L_{1i} и L_{2i} . Анализ состоит из двух частей: 1) испытание на наличие эпистаза; 2) исследование на аддитивную и доминантную компоненты, если эпистаз отсутствует. Математическую обработку полученных цифровых данных проводили на основе компьютерной программы [18].

Результаты и обсуждение. В 2013 и 2014 гг. изучали проявление признака количество семян с корзинки у 20-и межлинейных гибридов и их родительских компонентов: двух ЦМС форм (стерильная линия ВА 93 А со средним количеством семян с корзинки 712 шт. и простой стерильный гибрид с более высоким показателем – 974 шт.) и 10-и фертильных линий. Результаты учетов количества семян с корзинки в 2014 г. представлены в таблице 1.

Таблица 1

Количество семян с корзинки у родительских линий и гибридов подсолнечника

г. Краснодар, ВНИИМК, 2013 г.

Линия-опылитель	Гибрид опылителя с тестером		Среднее	
	ВА 93	Куб. 93	гибридов	линии-опылителя
СЛ ₁₃ 2310	980,7	1098	1039,33	501,00
СЛ ₁₃ 3854	921,7	1104	1012,83	492,00
ВК654	908,0	1147	1027,50	571,00
СЛ ₀₅ 16	945,7	1209	1077,33	654,00
СЛ ₁₃ 2196	1056,0	1208	1132,00	598,00
СЛ ₁₃ 2272	943,7	1048	995,83	405,33
СЛ ₁₃ 3870	760,0	1037	898,50	470,00
СЛ ₁₃ 2286	942,7	1165	1053,83	549,00
СЛ ₁₃ 2260	982,7	1149	1065,83	578,00
СЛ ₁₃ 2266	929,0	1151	1040,00	542,00

Данные дисперсионного анализа указывают на отсутствие эпистатического эффекта (табл. 2). Определение величин эпистаза $F = \frac{23173,486}{9943,797} = 2,330$, т.е. $F_{05 \text{ факт.}}$ (2,330) было значительно ниже $F_{05 \text{ табл.}}$ (2,46). Следовательно, в данном опыте взаимодействие по типу эпистаза отсутствовало.

28

Таблица 2

Тест на эпистаз методом двутестерного анализа родительских линий подсолнечника по признаку количество семян в корзинке

г. Краснодар, ВНИИМК, 2013 г.

	Сумма квадратов	Степень свободы	Средний квадрат	$F_{\text{факт.}}$	$F_{05 \text{ табл.}}$
Общее	390571,375	29	13467,978		
Линии	208561,375	9	23173,486	2,330	2,460
Повторность	3021,667	2	1510,833		
Ошибка	178988,344	18	9943,797		

После проведения дисперсионного анализа сумм ($L_{1i} + L_{2i}$) определили параметр доминирования $D = 25820,14$ (табл. 3), при этом критерий $F_{05 \text{ факт.}}$ (4,386) был выше $F_{05 \text{ теор.}}$ (2,46), следовательно, присутствует аддитивное взаимодействие генов.

Таблица 3

Тест на аддитивность методом двутестерного анализа линий подсолнечника по признаку количество семян в корзинке

г. Краснодар, ВНИИМК, 2013 г.

	Сумма квадратов	Степень свободы	Средний квадрат	$F_{\text{факт.}}$	$F_{05 \text{ табл.}}$
Общее	585303,313	29	20182,873		
Линии	399111,281	9	44345,698	4,386	2,460
Повторность	4183,417	2	2091,708		
Ошибка	182008,594	18	10111,589		

Дисперсионный анализ разностей ($L_{1i} - L_{2i}$) позволил вычислить параметр доминирования $H_1 = 3342,51$ (табл. 4) и степень доминирования $(\sqrt{H_1/D}) * 1/2 = 0,360$, т.е. в генетическом определении количество семян с корзинки у гибридов подсолнечника весьма существенно.

Таблица 4

Тест на доминирование методом двутестерного анализа линий подсолнечника по признаку количество семян в корзинке

г. Краснодар, ВНИИМК, 2013 г.

	Сумма квадратов	Степень свободы	Средний квадрат	$F_{\text{факт.}}$	$F_{05 \text{ табл.}}$
Общее	340431,188	29	11739,006		
Линии	95663,203	9	10629,245	0,803	2,460
Повторность	6556,198	2	3278,099		
Ошибка	238211,813	18	13233,990		

Примечание: параметр доминирования $H_1 = 3342,51$, степень доминирования $\sqrt{H_1/D} = 0,360$

В 2014 г. были получены аналогичные результаты. При этом эффект эпистаза

отсутствовал, т.к. $F_{\text{факт.}} = 1,342$, что значительно ниже $F_{05 \text{ табл.}} = 2,460$. Дисперсионный анализ сумм ($L_{1i} + L_{2i}$) позволил определить параметр доминирования $D = 16231,28$, а также критерий $F_{\text{факт.}} = 3,872$ при $F_{05 \text{ табл.}} = 2,460$, что свидетельствует о наличии аддитивного взаимодействия генов. После проведения дисперсионного анализа разностей ($L_{1i} - L_{2i}$) вычислили параметр доминирования $H_1 = 2958,47$ и степень доминирования $\sqrt{H_1/D} = 0,424$, т.е. в генетическом контроле признака количество семян с корзинки влияние эффекта доминирования весьма существенно.

Учитывая результаты наших исследований, можно сделать заключение о целесообразности использования применительно к изученному селекционному материалу подсолнечника следующих методов селекции:

- периодический отбор на общую комбинационную способность (ОКС), предложенный Дж. Спрэгом [19], основанный на оценке селекционного материала по общей комбинационной способности. В теоретическом отношении он базируется на признании основной причины гетерозиса – гипотезы доминантных сцепленных факторов, обладающих аддитивным эффектом. Оценка на общую комбинационную способность при этой селекции предполагает использование в качестве тестеров относительно устойчивых гетерогенных популяций или многочисленных линий.

- конвергентное улучшение, предложенное F.D. Richey [20] для улучшения линий кукурузы, основанное на признании в качестве причины гетерозиса благоприятного действия доминантных сцепленных факторов. При этом методе путем беккроссов простого гибрида $A \times B$ на каждую из родительских линий получают новые самоопыленные линии A' и B' , каждая из которых несет ряд доминантных генов другой родительской линии. Таким образом достигается накопление благоприятных доминантных генов в каждой из родительских линий, вследствие чего должно воз-

расти проявление того или иного признака гибридов при одновременном снижении их гетерозиготности.

- метод кумулятивной селекции, предложенный F.D. Richey [21], как и периодический на ОКС и конвергентное улучшение, основан на признании гипотезы доминирования. При этом методе целью ставится накопление (кумуляция) благоприятных генов в линии путем скрещивания лучших по ОКС линий и отбора лучших комбинаций. Сначала производится скрещивание селективируемых линий с тестером или несколькими тестерами, если это линии, и на основе испытания на ОКС отбираются лучшие из них. В дальнейшем ставится цель, посредством скрещивания лучших по комбинационной способности линий и самоопыления полученных гибридов вывести относительно мощные линии, дающие высокопродуктивные гибриды.

Выводы. В наследовании признака количество семян с корзинки у межлинейных гибридов подсолнечника на ЦМС-основе наличия эпистаза не обнаружено. В генетическом контроле этого признака основную роль играет аддитивное взаимодействие генов и доминирование. Для повышения уровня признака количество семян с корзинки у изученных нами линий подсолнечника целесообразно использовать периодический отбор на ОКС, конвергентное улучшение и кумулятивную селекцию.

Список литературы

1. Skoric D., Gerald J. Seiler, Zhao Liu, Chao-Chien Jan, Jerry F. Miller, Laurence D. Charlet. Sunflower genetics and breeding. – Serbian Academy of Science and Arts, Branch in Novi Sad, 2012. – 520 p.
2. Skoric D. Correlation among the most important characters of sunflower in F1 generation // Proc. 6th Int. Sunfl. Conf. Bucharest, 22–24 July, 1974. – P. 271–283.
3. Marinkovic R. The mode of inheritance of seed yields and some yield components by crossbreeding different inbred lines of sunflower: PhD thesis. – University of Novi Sad. Faculty of Agriculture. Novi Sad, 1984. – P.17–19.
4. El-Hosory A., El-Ahmar B., El-Kasaby A.E. Association studies in sunflower // Helia. – 1999. – 22. – P. 561–567.
5. Takleworld A., Jayaramaiah H., Jagadeesh B.N. Correlations and path analysis physiomorphological characters of sunflower (*Helianthus annuus* L.) as related to breeding method // Helia. – 2000. – 23 (32) – P. 105–114.

6. Merrien A., Blanchet R., Gelfi N., Rellier J.P. and Rollier M. Pathways of yield elaboration in sunflower under various water stresses // Proc. of 10th Intern. Sunfl. Conf. Surfers Paradise, Australia, March 14–18, 1982. – Vol. 1. – P. 11–14.

7. Hladni N., Skoric D., Kraljevic-Balalic M. Components of phenotypic variability for seed yield per plant of sunflower // Conference Proceeding from 43th Counseling on production, Budva. – 2002. – 43. – P. 31–36.

8. Hladni N. Combining abilities and mode of inheritance of yield and yield components in sunflower (*Helianthus annuus* L.): PhD thesis. – University of Novi Sad. Faculty of Agriculture. Novi Sad, 2007. – P. 1–104.

9. Ghaffart M., Farrokhi E. Principal component analysis as reflector of combining abilities // Proc. of 17th Intern. Sunfl. Conf., Cordoba, Spain, June 8–12, 2008. – Vol. 2. – P. 499–504

10. Kovacik A., Skaloud V. Sunflower genetics and its application in sunflower selection // *Genetica a slechteni*. – 1971. – 7. – P. 59–66.

11. Rao N.M., Singh B. Inheritance of some quantitative characters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Pak. J. Res.* – 1977. – 2. – P. 144–146.

12. Marincovic R. Inheritance of leaf area in the F₁ generation and components of genetic variability // *Archives of agricultural sciences*. – 1980. – 41 (143). – P. 385–392.

13. Kumar A.A., Ganesh M., Janila P. Combining ability analysis for yield contributing characters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Ann. Agric. Res.* – 1998. – 19. – P. 437–440.

14. Goksoy A.T., Turkec A., Turan Z.M. Heterosis and combining ability in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Indian J. Agric. Sci.* – 2000. – 70 (8). – 525 p.

15. Лукомец В.М., Тишков Н.М., Баранов В.Ф., Пивень В.Т., Уго Торро Корреа, Шуляк И.И. Методика проведения полевых агротехнических опытов с масличными культурами. – Краснодар, 2010. – 327 с.

16. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

17. Jinks J.L., Perkins J.M., Breese E.L. A general method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits. II Application to inbred lines // *Heredity*. – 1969. – Vol. 24. – P. 45–57.

18. Сорокин О.Д. Пакет программ BIOGEN. – [Электронный ресурс]. – URL: odssoft.narod.ru.

19. Спрэг Дж. Ранние испытания и периодический отбор // Гибридная кукуруза. – М.: Иностранная литература, 1955. – С. 262–283.

20. Richey F.D. The convergent improvement of selected lines of corn // *Amer. Nature*. – 1927. – 61. – P. 430–449.

21. Richey F.D. Isolating better foundation inbred for use in corn hybrids // *Genetics*. – 1945. – 30. – P. 455–471.

References

1. Skoric D., Gerald Seiler, Zhao Liu, Chao-Chien Jan, Jerry F. Miller, Laurence D. Charlet. Sunflower genetics and breeding. – Serbian Academy of Science and Arts, Branch in Novi Sad, 2012. – 520 p.

2. Skoric D. Correlation among the most important characters of sunflower in F₁ generation // Proc. of 6th Intern. Sunfl. Conf., Bucharest, 22–24 July, 1974. – P. 271–283.

3. Marinkovic R. The mode of inheritance of seed yields and some yield components by crossbreeding

different inbred lines of sunflower: PhD thesis. – University of Novi Sad. Faculty of Agriculture. Novi Sad, 1984. – P.17–19.

4. El-Hosory A., El-Ahmar B., El-Kasaby A.E. Association studies in sunflower // *Helia*. – 1999. – 22. – P. 561–567.

5. Takleworld A., Jayaramaiah H., Jagadeesh B.N. Correlations and path analysis physiomorphological characters of sunflower (*Helianthus annuus* L.) as related to breeding method // *Helia*. – 2000. – 23 (32) – P. 105–114.

6. Merrien A., Blanchet R., Gelfi N., Rellier J.P. and Rollier M. Pathways of yield elaboration in sunflower under various water stresses // Proc. of 10th Intern. Sunfl. Conf., Surfers Paradise, Australia, March 14–18, 1982. – Vol. 1. – P. 11–14.

7. Hladni N., Skoric D., Kraljevic-Balalic M. Components of phenotypic variability for seed yield per plant of sunflower // Conference Proceeding from 43th Counseling on production, Budva. – 2002. – 43. – P. 31–36.

8. Hladni N. Combining abilities and mode of inheritance of yield and yield components in sunflower (*Helianthus annuus* L.): PhD thesis. – University of Novi Sad. Faculty of Agriculture. Novi Sad, 2007. – P. 1–104.

9. Ghaffart M., Farrokhi E. Principal component analysis as reflector of combining abilities // Proc. of 17th Intern. Sunfl. Conf., Cordoba, Spain, June 8–12, 2008. – Vol. 2. – P. 499–504.

10. Kovacik A., Skaloud V. Sunflower genetics and its application in sunflower selection // *Genetica a slechteni*. – 1971. – 7. – P. 59–66.

11. Rao N.M., Singh B. Inheritance of some quantitative characters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Pak. J. Res.* – 1977. – 2. – P. 144–146.

12. Marincovic R. Inheritance of leaf area in the F₁ generation and components of genetic variability // *Archives of agricultural sciences*. – 1980. – 41 (143). – P. 385–392.

13. Kumar A.A., Ganesh M., Janila P. Combining ability analysis for yield contributing characters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Ann. Agric. Res.* – 1998. – 19. – P. 437–440.

14. Goksoy A.T., Turkec A., Turan Z.M. Heterosis and combining ability in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Indian J. Agric. Sci.* – 2000. – 70 (8). – 525 p.

15. Lukomets V.M., Tishkov N.M., Baranov V.F., Piven' V.T., Ugo Torro Korrea, Shulyak I.I. Metodika provedeniya polevykh agrotekhnicheskikh opytov s maslichnymi kul'turami. – Krasnodar, 2010. – 327 s.

16. Dospekhov B.A. Metodika polevogo opyta. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

17. Jinks J.L., Perkins J.M., Breese E.L. A general method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits. II Application to inbred lines // *Heredity*. – 1969. – Vol. 24. – P. 45–57.

18. Sorokin O.D. Paket programm BIOGEN. – [Elektronnyy resurs]. – URL: odssoft.narod.ru.

19. Spreg Dzh. Rannie ispytaniya i periodicheskiy otbor // Gibridnaya kukuruza. – М.: Inostrannaya literatura, 1955. – С. 262–283.

20. Richey F.D. The convergent improvement of selected lines of corn // *Amer. Nature*. – 1927. – 61. – P. 430–449.

21. Richey F.D. Isolating better foundation inbred for use in corn hybrids // *Genetics*. – 1945. – 30. – P. 455–471.