

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРИЗНАКА «КРАСНАЯ ПИГМЕНТАЦИЯ ЛИСТА» У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

А.В. Мглинец, З.А. Осипова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: mglin@bionet.nsc.ru

Выполнено генетическое изучение признака окраски, характерной для сахарной свеклы сорта Rotblatt, и названного признака «красная пигментация листа». Показано, что данный признак наследуется по моногенной схеме. Ген, его определяющий, находится в первой группе сцепления на расстоянии $19,8 \% \pm 5,3 \%$ кроссинговера от гена *B*, контролирующего одно-двулетний тип развития. На основании данных литературы и сведений о происхождении сорта Rotblatt делается вывод, что геном, определяющим красную пигментацию листа у данного сорта, является ген *Cl*, впервые описанный в 1942 г. На основании литературных и экспериментальных данных сделан вывод, что признак «окраска верхушек цветоносных побегов» также определяется геном *Cl*.

Введение

У культурной свеклы (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*), к которой относятся: свекла сахарная, столовая, кормовая и листовая, выделяют окраску гипокотыля или подсемядольного колена, окраску корня и окраску надземной части растения (листа и стебля) (Letschert, 1993; Lange *et al.*, 1999). За развитие окраски отвечают два основных гена, *R* и *Y*, с серией аллелей в каждом (Keller, 1936; Wolyn, Gabelman, 1989). Комбинация рецессивных и доминантных аллелей по этим двум локусам приводит к разнообразным окраскам гипокотыля, корня и надземной части растения свеклы. Гены *R* и *Y* расположены в одной группе сцепления и, по разным данным, находятся на расстоянии от 6,3 до 7,5 % кроссинговера друг от друга (Keller, 1936; Linde-Laursen, 1972). Кроме двух этих генов получены экспериментальные данные о влиянии на окраску мякоти корня ряда других локусов (Linde-Laursen, 1972; Goldman, Austin, 2000).

Наличие доминантного аллеля в гене *R* является необходимым условием проявления окраски в надземной части растения. Описано несколько генов, определяющих различную окраску листа: *Cl* – ген окраски листа, *Cv* – вызывает окраску жилок листа, *Tr* – вызывает

пятнистую окраску листа (Owen, Ryser, 1942). Также описаны гены, определяющие окраску стебля (*Stc*) и окраску верхушек цветоносных побегов (*Tc*) (Коновалов, 1992; Мглинец, Осипова, 2006). Для генов *Cl*, *Cv* и *Tr* известно, что они находятся в первой группе сцепления на расстоянии 12 % кроссинговера от гена *B*, определяющего одно-двулетний тип развития (Owen, Ryser, 1942). В этой же группе сцепления на расстоянии 17,5 % кроссинговера от гена *B* локализован ген *Stc* (Мглинец, Осипова, 2006).

Целью данной работы было установление генетического контроля признака «красная пигментация листа», характерного для сорта сахарной свеклы Rotblatt.

Материал и методы

Растения сахарной свеклы сорта Rotblatt (вр.к-1469, каталог мировой коллекции ВИР) первого года имеют красный гипокотиль, белую мякоть корня и частично или полностью краснопигментированные листья (Каталог мировой коллекции ВИР, 1985). С внутренней стороны листа окраска видна гораздо лучше, чем с внешней. При этом жилки листа остаются неокрашенными. В сорте встречаются растения с несимметричной листовой пластинкой, с листо-

вой пластинкой, загнутой по краю. У растений второго года помимо различной степени пигментации листьев также может быть полная или частичная пигментация прицветных листьев, что обуславливает красную окраску концов цветоносных побегов. Данный фенотип получил название «окраска верхушек цветоносных побегов» (top color, tc) (Коновалов, 1992). Под окраской, характерной для сорта Rotblatt, будем подразумевать частичную или полную красную пигментацию листьев у растений, находящихся в вегетативной или генеративной стадиях развития. В дальнейшем данный фенотип будем называть «красная пигментация листа». А под фенотипом «окраска верхушек цветоносных побегов» – красную окраску концов цветоносных побегов у растений, находящихся в генеративной стадии развития.

Происхождение краснолистной свеклы. Одно растение линии сахарной свеклы СОАН-22, полученной в лаборатории популяционной генетики растений (бывшая лаборатория полиплоидии) Института цитологии и генетики СО РАН, было опылено несколькими растениями сорта Rotblatt. Второе гибридное поколение было получено путем самоопыления одного растения. Из этого гибридного поколения растение, имеющее «красную пигментацию листа», вновь было самоопылено. Полученная таким образом инбредная популяция состояла как из растений с обычными зелеными листьями (растения без окраски), так и растений с различной степенью пигментации листьев и концов цветоносных побегов. Растения с хорошо выраженным признаком «красная пигментация листа», характерным для сорта Rotblatt, были использованы в данной работе.

Источник признака «однолетний тип развития». Источником признака «однолетний тип развития» послужило одно растение из популяции F_2 , мономорфной по красной окраске гипокотила, но расщепляющейся по типу развития. Самоопыление данного растения показало, что оно гетерозиготно по гену *B*, определяющему одно-двулетний тип развития, поскольку его потомство состояло из однолетних и двулетних растений.

Гибридизация. Гибридизация растений проводилась путем контролируемых скрещиваний. Для этого 10–15 нераскрывшихся цветков

кастрировали и изолировали с помощью пергаментных изоляторов. Опыление проводили свежесобранной пылью через 3–4 дня. Изолятор вновь надевали и оставляли на растении до полного созревания клубочков. Гибридное поколение F_2 получали путем принудительного самоопыления растений F_1 также с использованием пергаментных изоляторов.

Выращивание растений проводили на опытных полях Селекционно-генетического комплекса Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск, Россия) при естественном освещении. К однолетним относили растения, которые начинали цвести через 2,5–3 месяца после посева семян. Растения, которые не дали цветоносы, относили к двулетним.

Наблюдение за окраской гипокотила проводили на всех этапах генетического анализа, с тем чтобы исключить влияние полиморфизма по гену *R* на расщепление по признакам «красная пигментация листа» и «окраска верхушек цветоносных побегов».

Для сравнения соответствия экспериментальных данных теоретически ожидаемым использовался статистический критерий χ^2 . Для расчета коэффициента рекомбинации и его ошибки был использован метод максимального правдоподобия, предложенный Фишером (Fisher, Balmukand, 1928).

Результаты

Изучение наследования признака «красная пигментация листа»

Для изучения наследования признака «красная пигментация листа», характерного для сорта Rotblatt, три растения сахарной свеклы, выступающие в качестве материнской формы и происходящие из различных популяций, были опылены краснолистной свеклой. Первое гибридное поколение насчитывало 17 растений. У трех из них отсутствовало какое-либо проявление пигментации листьев и цветоносных побегов. У двух растений отсутствовал признак «красная пигментация листа», но был четко выражен признак «окраска верхушек цветоносных побегов», у оставшихся 12 растений наблюдались как «красная пигментация листа», так и «окраска верхушек цветоносных побегов».

Для получения второго гибридного поколения были выбраны четыре растения, имеющие различные проявления окраски. Три гибридных популяции F_2 (табл. 1) были получены самоопылением растений, имеющих признаки: «красная пигментация листа» и «окраска верхушек цветonoсных побегов». Одна гибридная популяция (табл. 1) была получена путем самоопыления растения, у которого присутствовал признак «окраска верхушек цветonoсных побегов», но листья не имели красной пигментации. Как видно из табл. 1, его потомство в основном представлено растениями, имеющими как краснопигментированные листья, так и красноокрашенные концы цветonoсных побегов. Аналогичная картина наблюдается и в потомстве растений, имевших красную пигментацию листьев и верхушек цветonoсных побегов. Такое поведение разных признаков позволяет предположить, что красная пигментация листьев и верхушек цветonoсных побегов является разным проявлением одних и тех же ядерных факторов.

Во всех четырех гибридных популяциях F_2 (табл. 1) рассмотрим расщепление на два фенотипических класса: растения окрашенные и без окраски. В класс окрашенных отнесем растения, имеющие как «красную пигментацию листьев» и «окраску верхушек цветonoсных побегов», так и растения, которые имеют или только окрас-

ку листьев или только окрашенные верхушки цветonoсных побегов. В класс неокрашенных отнесем растения, у которых красная окраска листьев и цветonoсных побегов отсутствует.

Как видно из табл. 1, во втором гибридном поколении в трех гибридных популяциях расщепление по признаку «наличие–отсутствие окраски» очень хорошо соответствует моногенной схеме наследования. Рассчитанные значения критерия χ^2 меньше его табличного значения при 5 % уровне значимости. Для одной популяции экспериментально полученные данные значимо отличаются от теоретически ожидаемых из-за значительного избытка зеленых растений.

Полученные данные, а именно наследование окраски, характерной для сорта Rotblatt, в первом гибридном поколении, а также характер расщепления на фенотипические классы во втором позволяют заключить, что признак «красная пигментация листа», характерный для сорта Rotblatt, является доминантным и, скорее всего, контролируется одним ядерным геном. Только рецессивные гомозиготы по данному гену не имеют окраски, у остальных же генотипов чаще всего наблюдается пигментация листа и цветonoсных побегов одновременно, гораздо реже эти два признака встречаются по отдельности.

Таблица 1

Расщепление по признакам «красная пигментация листа» и «окрашенные концы цветonoсных побегов» в разных гибридных поколениях

Фенотип материнского растения	Поколение	Число растений				χ^2 (3 : 1) окр. : без окр.
		окрашенные			без окраски	
		лист и концы веток	лист	концы веток		
	F_1	12	–	2	3	–
Окрашенные концы веток	F_2	39	3	1	15	0,02
Окрашенные лист и концы веток	F_2	81	16	–	53	8,54*
Окрашенные лист и концы веток	F_2	52	–	–	18	0,02
Окрашенные лист и концы веток	F_2	25	2	–	9	0

* Экспериментально полученные данные значимо отличаются от теоретически ожидаемых χ^2 0,05 (d.f. = 1) = 3,84; χ^2 0,01 (d.f. = 1) = 6,63.

Изучение совместного наследования признаков «одно-двулетний тип развития» и «красная пигментация листа»

Для изучения совместного наследования признаков окраски листа и типа развития в качестве материнской формы было использовано одно двулетнее растение из второго гибридного поколения, расщепляющегося в соотношении 27 окрашенных и 9 неокрашенных растений (табл. 1). Данное растение, с двулетним типом развития имело краснопигментированные листья и окрашенные верхушки цветоносных побегов. В качестве опылителя было использовано растение с однолетним типом развития, не имеющее красной пигментации листа и концов цветоносных побегов. Поскольку растение-опылитель было гетерозиготно по гену *B*, то, как и следовало ожидать, в первом гибридном поколении наблюдалось расщепление по признаку одно-двулетности. Среди 18 растений 9 имели однолетний тип развития, а остальные 9 – двулетний. По признаку окраски листа и цветоносных побегов у гибридов наблюдалась следующая картина: все растения с двулетним типом развития имели краснопигментированную листовую пластинку, однако степень пигментации варьировала от хорошо выраженной до очень слабой. У растений с однолетним типом развития также наблюдалось варьирование в степени выраженности как данного признака, так и признака «окраска верхушек цветоносных побегов».

Три растения с однолетним типом развития и различным проявлением признаков окраски листа и концов цветоносных побегов были использованы для получения гибридов второго поколения. Два растения обладали хорошо выраженными признаками «красная пигментация листа» и «окраска верхушек цветоносных побегов». Одно растение не имело краснопигментированных листьев, а верхушки цветоносных побегов были слабо окрашены.

Во втором гибридном поколении, как и ожидалось, наблюдалось расщепление как по признаку одно-двулетности, так и по признакам «красная пигментация листа» и «окраска верхушек цветоносных побегов». Все растения, которые классифицировались как двулетние и зеленые, после яровизации не имели никаких признаков окраски. Двулетние растения, ко-

торые имели признак «красная пигментация листа», после яровизации во время цветения по-прежнему имели данный признак, а также окрашенные верхушки цветоносных побегов.

В потомстве растений, имевших краснопигментированные листья и верхушки цветоносных побегов, все растения с окраской имели и окрашенные листья, и окрашенные верхушки цветоносных побегов. Потомство растения, имевшего только окрашенные верхушки цветоносных побегов, в основном было представлено растениями с окрашенными листьями и цветоносными побегами. Только три растения не имели красной пигментации листа, но имели окрашенные верхушки цветоносных побегов. Эти три растения в середине цветения были обрезаны, с тем чтобы определить их фенотип при повторном отрастании. Оказалось, что вновь появившиеся листья и цветоносные побеги имеют хорошо выраженную красную окраску. Поэтому при изучении наследования окраски, характерной для сорта *Rotblatt*, в класс окрашенных следует относить как растения с окраской листа и цветоносов, так и растения с зелеными листьями, но окрашенными верхушками цветоносных побегов, что было сделано нами ранее.

В табл. 2 приведены экспериментальные данные распределения растений второго гибридного поколения по классам одно-двулетности и наличия-отсутствия красной пигментации листа. При использовании критерия χ^2 для сравнения соответствия экспериментально полученных данных моногенной схеме наследования при распределении растений по классам «одно-двулетний тип развития» получаем: 0,39 для популяции № 16; 0,67 для популяции № 18 и 0,48 для популяции № 11, а при распределении растений по классам «наличие-отсутствие красной пигментации листа» для этих же популяций соответственно получаем: 0,04, 0,34 и 0,85. Поскольку каждый из вышеперечисленных признаков наследуется в соответствии с моногенной схемой, это позволяет проверить на соответствие экспериментально полученные данные модели независимого дигенного расщепления. Применение критерия χ^2 для проверки данной гипотезы позволяет сделать вывод: модель независимого наследования не принимается, однако значения критерия таковы, что она и не отвергается. Что связано, прежде

Таблица 2

Распределение растений по классам одно-двулетности
и окраски листа во втором гибридном поколении

Номер популяции	Число растений					χ^2 (9 : 3 : 3 : 1)
	всего	однолетних		двулетних		
		окрашенных	без окраски	окрашенных	без окраски	
16	124	62	28	32	2	9,39**
18	98	55	22	21	0	7,21**
11	100	50	28	21	1	9,94**
Сумма	322	167	78	74	3	23,89***

** Экспериментально полученные данные значимо не отличаются от теоретически ожидаемых при 1 %-м уровне значимости. *** Экспериментально полученные данные значимо отличаются от теоретически ожидаемых, рассчитанное значение коэффициента рекомбинации составляет $19,8\% \pm 5,3\%$; $\chi^2_{0,05}$ (d.f.=3) = 7,81; $\chi^2_{0,01}$ (d.f.=3) = 11,3.

всего, с недостаточными размерами выборок (Животовский, 1991).

Сравнение с помощью критерия χ^2 данных, приведенных в табл. 2, на однородность показывает, что они принадлежат одной генеральной совокупности. Рассчитанное значение критерия равно 3,59, теоретически ожидаемое равно 12,59 для 5 % уровня значимости и шести степеней свободы. Поэтому данные по каждому классу можно просуммировать и проверить их на соответствие дигенной схеме наследования.

Анализ объединенных данных показывает, что расщепление по признакам однолетности–двулетности и наличия–отсутствия окраски листа очень хорошо соответствует моногенной схеме наследования. Рассчитанное значение критерия составляет 0,20 и 0,004 для вышеперечисленных признаков соответственно. В то же время расщепление по этой паре признаков значимо отличается от дигенной схемы наследования при 1 %-м уровне значимости. Поэтому можно оценить коэффициент рекомбинации между генами, определяющими тип развития и красную пигментацию листа. Полученное значение составляет $19,8\% \pm 5,3\%$.

Обсуждение

Первые данные о наследовании красной пигментации листа у свеклы были опубликованы Оуэном и Ризером в 1942 г. (Owen, Ryser, 1942). Они выделили три признака: окрашенный лист (colored leaf), контролируемый геном *Cl*, окрас-

ка жилок листа (colored veins), обусловленная геном *Cv*, и форелевый лист (trout leaf), контролируемый геном *Tr*. Американские исследователи пишут, что донором признаков «colored leaf» и «trout leaf» послужили образцы свеклы, полученные с сахарного завода, расположенного в Клейнванцлебене (Германия) (Owen, Ryser, 1942). В данной работе донором признака «красная пигментация листа» послужил сорт Rotblatt, поступивший в ВИР из Клейнванцлебена (бывшая ГДР).

Общность происхождения образцов свеклы, использованных американскими исследователями, и сорта Rotblatt позволяет предположить, что мы в своей работе изучали наследование окраски, которая ранее уже была изучена. Осталось установить, с каким именно из описанных ранее признаков обнаруживает сходство окраска сорта Rotblatt. Сравнение описаний, данных в работе Оуэна и Ризера, и окраски растений сорта Rotblatt показывает, прежде всего, большое сходство с признаком «colored leaf». Это касается, прежде всего, распределения окраски по листу, а также того, что с внутренней стороны она видна лучше, чем с наружной. К этому можно добавить, что в сорте Rotblatt и гибридов с ним появляются растения, у которых наблюдается различная степень асимметрии листа, когда одна половина больше другой. На эту особенность признака «colored leaf» также обращали внимание Оуэн и Ризер. В дополнение можно добавить, что помимо большого сходства в описании признака ген, контролирующий проявление признака окраски

листа, находится в той же группе сцепления, что и ген *Cl*, описанный Оуэном и Ризером. Все вышперечисленное позволяет заключить, что мы имеем дело с тем же геном и тем же признаком, что и предыдущие исследователи. Поэтому для его обозначения будем использовать генетический символ *Cl*, предложенный ранее Оуэном и Ризером.

При изучении наследования признака «окраска верхушек цветоносных побегов» в качестве донора признака А.А. Коноваловым были использованы растения инбредной линии R-5, взятой из коллекции Института цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (Коновалов, 1992). Данная линия была получена в лаборатории популяционной генетики растений (бывшая лаборатория полиплоидии) ИЦиГ при самоопылении растений сорта Rotblatt (персональное сообщение Н.С. Леоновой). Если к этому добавить полученные нами результаты, что «окраска верхушек цветоносных побегов» и красная пигментация листьев всегда сопряжены, то становится очевидно, что эти два признака определяются одним и тем же геном, а именно геном *Cl*, впервые описанным еще в 1942 г.

Литература

Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 272 с.

Каталог мировой коллекции ВИР. Сахарная свекла. Л., 1985. 48с.

Коновалов А.А. Сцепление генов антоциановой окраски и несовместимости у сахарной свеклы // Докл. РАН. 1992. Т. 323. № 4. С. 772–775.

Мглинец А.В., Осипова З.А. Генетическое изучение новой окраски у свеклы *Beta vulgaris* L. // Генетика. 2006. Т. 42. № 7. С. 936–938.

Fisher R.A., Balmukand B.B. The estimation of linkage from the offspring of selfed heterozygotes // J. Genet. 1928. V. 20. P. 79–92.

Goldman I.L., Austin D. Linkage among the R, Y and BI loci in table beet // Theor. Appl. Genet. 2000. V. 100. № 3/4. P. 337–343.

Keller W. Inheritance of some major color types in beets // J. Agric. Res. 1936. V. 52. № 1. P. 27–38.

Lange W., Bock T.S.M. de, Brandenburg W.A. Taxonomy and cultonomy of beet (*Beta vulgaris* L.) // Bot. J. Linn. Soc. 1999. V. 130. № 1. P. 81–96.

Letschert J.P.W. Beta section Beta: biogeographical patterns of variation and taxonomy. Wageningen University, Wageningen, 1993. 154 p.

Linde-Laursen I. A new locus for colour formation in beet, *Beta vulgaris* L. // Hereditas. 1972. V. 70. № 10. P. 105–112.

Owen F.W., Ryser G.K. Some Mendelian characters in *Beta vulgaris* L. and linkages observed in the Y-R-B group // J. Agric. Res. 1942. V. 65. № 3. P. 155–171.

Wolyn D.J., Gabelman W.H. Inheritance of root and petiole pigmentation in red table beet // J. Hered. 1989. V. 80. № 1. P. 33–38.

GENETIC CONTROL OF RED LEAF COLOR TRAIT IN SUGAR BEET

F.V. Mglinets, Z.A. Osipova

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia, e-mail: mglin@bionet.nsc.ru

Summary

Inheritance of the coloration in sugar beet variety Rotblatt has been studied. Plants from Rotblatt variety have no pigmentation of root skin, flesh, petioles and leaf veins. The pigmentation of hypocotyl and leaves is red. This type of coloration named “colored leaf” has monogenetic inheritance. The gene for “colored leaf” has been localized in the Y-R-B linkage group. Recombination frequency between this gene and B gene controlling annual habit of beet is 19,8 % ± 5,3 %. As a result of literature and experimental data survey the “colored leaf” trait was stated to be determined by *Cl* gene described by F. Owen and G. Ryser. The *Cl* gene was also found to be responsible for “top color” trait in beet.