



УДК 633.853.494:631.523

Г.М. ОСИПОВА, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник

e-mail: osip@ngs.ru

Д.А. ПОТАПОВ, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник

e-mail: d_potapov@ngs.ru

Сибирский научно-исследовательский институт кормов

630501, Новосибирская область, Новосибирский район, пос. Краснообск

ГИБРИДОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОКРАСКИ ОБОЛОЧКИ СЕМЯН У ЯРОВОГО РАПСА

Проведен гибридологический анализ самоопыленных линий ярового рапса с разной окраской оболочки семян. Исследования проведены в Сибирском научно-исследовательском институте кормов (Новосибирская область, Новосибирский район, пос. Краснообск). Показано, что в различных комбинациях скрещиваний между светло- и темnoseмянными формами семяна F_1 имели темную окраску оболочки, которая варьировала от коричневой до черной с коричневым оттенком, что свидетельствует о доминировании темной окраски над светлой. Выявлено неполное доминирование этого признака в некоторых комбинациях скрещиваний. Отсутствие различий в результатах реципрокных скрещиваний указывает на то, что детерминация исследуемого признака может осуществляться ядерными генами. Идентифицировано 9 классов окраски оболочки семян, которые объединены в 2 группы: темно- и светлоокрашенные семена. Не выявлено достоверных различий между фактическим и теоретическим ожидаемыми расщеплениями – 15 : 1 для четырех комбинаций скрещиваний, 63 : 1 – для одной при стандартном значении χ^2 на 5%-м уровне значимости 3,84. Расщепление гибридных семян второго поколения в отношениях 15 : 1 и 63 : 1 указывает на участие в генетическом контроле этого признака двух или трех пар генов. Обсуждена проблема нестабильности желтой окраски оболочки семян у рапса и сделан вывод о том, что строгая изоляция растений не гарантирует константной желтой окраски оболочки семян, которая подвержена модификационной изменчивости под влиянием условий среды и недостаточно изученных эпигенетических механизмов контроля признаков.

Ключевые слова: яровой рапс, окраска оболочки семян, гибридологический анализ, χ -квадрат, генетический контроль.

В последние десятилетия изменение черной окраски оболочки семян у рапса на более светлую (желтую) – одна из основных задач в мировых селекционных исследованиях. Это связано с возросшими требованиями к растительным маслам как пищевого, так и непищевого использования. В существующих черnoseмянных сортах рапса сырая клетчатка семян имеет невысокую переваримость и низкую энергетическую ценность. Создание желтoseмянных сортов позволит снизить содержание сырых волокон в семенах на 24–28 %, уменьшить семенную оболочку на 63–70 %, в то время как сумма содержания белка и масла возрастает на 8–10 % в сравнении с черноокрашенными семенами [1–8]. Изменение этих показателей в сторо-

ну улучшения качественного состава семян связано с тем, что желтоокрашенные семена имеют более тонкую оболочку, чем черноокрашенные. Кроме того, у светлоокрашенных семян намного проще определить степень созревания, так как появление хлорофилла не маскируется темной оболочкой. В рапсосоющих странах это уменьшает риск снижения цен на семена из-за высокого содержания хлорофилла, которое является результатом преждевременной уборки. Более светлая окраска оболочки семян упрощает технологию очистки масла, так как после экстракции не происходит изменения цвета масла, лецитина и отпадает необходимость предварительного удаления семенной оболочки. Однако проблема оказалась довольно сложной и до сих пор не создано сортов рапса с желтой окраской оболочки семян. Основная причина – нестабильность окраски оболочки. В настоящее время проводят исследования в разных странах для выяснения этой проблемы. Одно из таких направлений – выявление генетического контроля этого признака.

Генетический контроль признака желтой окраски оболочки семян рапса начали изучать после того, как были получены его светлосемянные формы, так как в пределах вида *Brassica napus* таких генотипов не существовало. Первые исследования в этом направлении проведены в ФРГ [9]. Они показали, что окраска семян контролируется генотипом материнского растения. Дальнейшие исследования, проведенные в разных странах, указывали на то, что генетика данного признака имеет сложную природу. Окраска семян контролируется полигенно, обычно 2–4 парами генов. Кроме того, предполагается наличие генов-модификаторов, которые вносят вклад в нестабильность данного признака. По данным большинства авторов, желтые семена формируются тогда, когда все аллели в локусах находятся в гомозиготном рецессивном состоянии [9–14]. Однако китайскими исследователями в желтосемянной удвоенной гаплоидной линии идентифицирован доминантный ген, который имел эпистатические эффекты над двумя независимыми доминантными генами, контролирующими черную окраску оболочки семян [15].

Цель исследования – выявить генетический контроль признака окраски оболочки семян ярового рапса с использованием метода гибридологического анализа.

МАТЕРИАЛЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Исходным материалом для гибридологического анализа в 1990–1991 гг. с целью определения генетического контроля признака окраски оболочки семян использованы созданные нами линии ярового рапса третьего поколения № 623, 624, 615, I₀037 и седьмого поколения Агат, а также сорта Карат и Агат, которые в течение ряда лет размножали на изолированных участках. Рапс является факультативным самоопылителем, поэтому процент гомозигот у линий уже в третьем поколении инбридинга приближается к уровню облигатных самоопылителей [2].

Для определения степени соответствия экспериментальных данных с теоретически ожидаемыми использовали общепринятый метод χ^2 [16, 17].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В различных комбинациях скрещиваний между светло- и темnoseмянными формами семени первого поколения (F_1) имели темную окраску оболочки, которая варьировала от коричневой до черной с коричневым оттенком, что свидетельствует о доминировании темной окраски над светлой. В некоторых комбинациях этот признак проявлял неполное доминирование. При скрещивании черnoseмянного сорта Агат с желтoseмянной линией № 615, I_3 окраска семян гибрида была коричневой, тогда как в комбинации Карат $\times$ I_0037 , I_3 наблюдалось полное доминирование материнской формы, в комбинации Агат, $I_7 \times$ Кубанский – отцовской (табл. 1).

При скрещивании материнской линии № 623, I_3 с отцовским сортом Карат и наоборот окраска оболочки семян F_1 была коричневой. Отсутствие различий в результатах реципрокных скрещиваний указывает на то, что детерминация исследуемого признака может осуществляться ядерными генами.

Данные расщепления семян F_2 , полученных в разных комбинациях скрещиваний, показали окраску семян от желтой до черной с различными оттенками и пигментацией. При идентификации оболочки семян учитывали 9 классов окраски (табл. 2). Однако в связи с трудностью их опреде-

Таблица 1

Окраска оболочки семян у родительских форм и гибридных семян F_1

Комбинации скрещиваний	Окраска оболочки семян		
	♀ (мать)	♂ (отец)	F_1
№ 623, $I_3 \times$ Карат	Светло-коричневые с желтым оттенком	Черные	Коричневые
Карат $\times$ № 623, I_3	Черные	Светло-коричневые с желтым оттенком	»
Карат $\times$ № 624, I_3	»	То же	»
Карат $\times$ I_0037 , I_3	»	Светло-коричневые	Черные
Агат $\times$ № 615, I_3	»	Желтые со светло-коричневым оттенком	Коричневые
Агат, $I_7 \times$ Кубанский	Охровые	Черные с коричневым оттенком	Черные с коричневым оттенком

Таблица 2

Результаты расщепления окраски оболочки семян F_2 , полученных от различных комбинаций скрещиваний

Комбинация скрещиваний	Всего семян, шт.	Число семян F_2 с разной окраской оболочки					
		черной + серо-черной	коричневой + темно-коричневой + темно-охровой	светло-коричневой	охровой	желтой	бледно-желтой
№ 623, $I_3 \times$ Карат	482	456	0	26*	0	0	0
Карат $\times$ № 623, I_3	164	3	150	11*	0	0	0
Карат $\times$ № 624, I_3	346	0	322	24	0	0	0
Карат $\times$ I_0037 , I_3	130	0	121	9	0	0	0
Агат $\times$ № 615, I_3	278	187	85	0	5	1*	0
Агат, $I_7 \times$ Кубанский	301	0	282	19*	0	0	0

* Крапинки, пигментация, оттенки.

ления, на которую указывают и другие авторы [5, 9, 11], при анализе методом χ^2 формировали 2 класса: темно- и светлоокрашенные семена.

Расщепление гибридных семян F_2 , объединенных нами в 2 класса, показало следующие отношения для различных комбинаций скрещиваний: для рецессивных (№ 623, $I_3 \times$ Карат, Карат $\times$ № 623, I_3) – 18 темных : 1 светлое и 14 : 1 соответственно, для комбинаций Карат $\times$ № 624, I_3 и Карат $\times$ I₀037, I_3 – 13 : 1 и Агат, $I_7 \times$ Кубанский – 15 : 1, для комбинации Агат $\times$ № 615, I_3 – 45 : 1 (табл. 3).

Расчет критерия соответствия χ^2 для оценки данных, полученных при расщеплении семян во втором поколении, не выявил достоверных различий между фактическим и теоретическим ожидаемыми расщеплениями: 15 : 1 для четырех комбинаций скрещиваний, 63 : 1 – для одной. Стандартное значение χ^2 при 5%-м уровне значимости равнялось 3,84. Фактическое его значение, как видно из табл. 3, варьировало от 0 до 0,69 для разных комбинаций скрещиваний, т.е. было значительно ниже теоретического.

Соотношение 15 : 1 и 63 : 1 обычно наблюдается при полигенном действии генов. Степень развития признака в этом случае зависит от числа контролирующих его полигенов [16]. При наличии в растении двух доминантных генов, однозначно влияющих на развитие признака, расщепление происходит по соотношению 15 черных : 1 светлое, при наличии трех доминантных генов – 63 черных : 1 светлое. В соответствии с принятым в литературе обозначением генов, контролирующих окраску семян у рапса [9], в первом случае они обозначаются как Bl_1 и Bl_2 , во втором – Bl_1 , Bl_2 и Bl_3 . В расщеплении семян F_2 появляются растения, в генотипе которых имеется разное число доминантных генов, и очень редко – растения, ли-

Таблица 3

Фенотипическое расщепление окраски оболочки семян F_2 , полученных от различных комбинаций скрещиваний

Комбинация скрещиваний	Наименование	Расщепление F_2 , число семян		Отношение	χ^2
		с темной окраской оболочки	со светлой окраской оболочки		
№ 623, $I_3 \times$ Карат	Фактическое	456,0	26,0	18 : 1	–
	Ожидаемое	452,0	30,0	15 : 1	0,57
Карат $\times$ № 623, I_3	Фактическое	150,0	11,0	14 : 1	–
	Ожидаемое	151,0	10,0	15 : 1	0,11
Карат $\times$ № 624, I_3	Фактическое	332,0	24,0	13 : 1	–
	Ожидаемое	324,0	21,6	15 : 1	0,28
Карат $\times$ I ₀ 037, I_3	Фактическое	121,0	9,0	13 : 1	–
	Ожидаемое	121,9	8,1	15 : 1	0,11
Агат $\times$ № 615, I_3	Фактическое	272,0	6,0	45 : 1	–
	Ожидаемое	273,7	4,3	63 : 1	0,69
Агат, $I_7 \times$ Кубанский	Фактическое	282,0	19,0	15 : 1	–
	Ожидаемое	282,0	19,0	15 : 1	0,00

Примечание. $\chi_{05}^2 = 3,84$.

шенные их, с генотипом $bl_1bl_1bl_2bl_2bl_3bl_3$. Исходные родительские формы должны были бы иметь генотипы $Bl_1Bl_1Bl_2Bl_2Bl_3Bl_3$ и $bl_1bl_1bl_2bl_2bl_3bl_3$. Однако в нашем случае все намного сложнее, если учесть, что для получения таких соотношений, определяемых полигенным действием генов, пришлось объединять ряд фенотипических классов из-за трудности идентификации окраски оболочки семян.

Полученные результаты гибридологического анализа, свидетельствующие о взаимодействии двух или трех пар полигенов в детерминации признака окраски оболочки семян, согласуются с данными, полученными в Германии: желтые семена появляются лишь тогда, когда все аллели в трех локусах рецессивны [9]. В связи с большой изменчивостью этого признака и трудностью четкой идентификации его фенотипических классов, существует, видимо, более сложная природа его наследования, которая требует дальнейших глубоких исследований в этом направлении с привлечением разнообразного исходного материала.

Нестабильность экспрессии желтой окраски оболочки семян в ряду поколений связана, вероятно, не только с рецессивным контролем признака желтой окраски и средовыми модификациями, но она может иметь и эпигенетическую природу, которая временно в форме молекулярной «памяти» изменяет экспрессию гена при определенных условиях среды, как внешней, так и внутренней. Механизм этого явления до сих пор недостаточно изучен. Регуляция экспрессии генов может происходить на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях [18, 19].

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что признак темной окраски семян ярового рапса является доминантным по отношению к светлой. Расщепление гибридных семян второго поколения происходит в отношениях 15 : 1 и 63 : 1, которые указывают на участие в генетическом контроле этого признака двух или трех пар генов.

2. Сложная природа наследования и рецессивное состояние генов, контролирующих необходимый селекционеру признак (желтую окраску семян), в сильной степени усложняют создание сортов 000-типа. Строгая изоляция не гарантирует константной желтой окраски оболочки семян, которая подвержена модификационной изменчивости под влиянием условий среды и недостаточно изученных эпигенетических механизмов контроля признаков.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Карпачев В.В. Рапс яровой. Основы селекции. – Липецк, 2008. – 236 с.
2. Осипова Г.М. Рапс в Сибири. Морфобиологические, генетические и селекционные аспекты. – Новосибирск, 1998. – 168 с.
3. Abbadi A., Leckband G. Rapeseed breeding for oil content, quality, and sustainability // European J. of Lipid Science and Technology. – 2011. – Vol. 113, N 10. – P. 1198–1206.
4. Theodoridou K., Yu P. Effect of processing conditions on the nutritive value of canola meal and presscake. Comparison of the yellow and brown-seeded canola meal with the brown-seeded canola presscake // J. Sci. Food Agric. – 2013. – Vol. 93, N 8. – P. 1986–1995.
5. Bechyne M. Breeding and some biological properties of yellow-seeded winter rapeseed (*Brassica napus* L.) // Proc. 7th Intern. Rapeseed Cong. – Poznan, 1987. – Vol. 2. – P. 481–487.

6. **Jonsson R., Bengtsson L.** Yellow-seeded rape and turnip rape. 1. Influence of breeding for yellow seeds upon yield and quality properties // *Sveriges Utsadesforen. Tidskr.* – 1970. – Bd. 80. – S. 149–155.
7. **Jonsson R., Uppstrom B.** Quality breeding in rapeseed // *Svalof. 1886–1986, Research and Results in Plant Breeding* / Ed. G.Olsson. – Stockholm: LTs forlag, 1986. – P. 173–184.
8. **Rahman M.H., Joersbo M., Poulsen M.H.** Development of yellow-seeded *Brassica napus* of double low quality // *Plant Breed.* – 2001. – Vol. 120. – P. 473–478.
9. **Shirzadegan M.** Inheritance of seed colour in *Brassica napus* L. – *Z. Pflanzenzucht.* – 1986. – Vol. 96, N 2. – P. 140–146.
10. **Barcikowska B., Zwierzykowska E., Balicka M.** On the way to yellow seeded *Brassica napus* L. – hybrids of *B. campestris* × *B. oleraceae* and of *B. oleraceae* × *B. carinata* yellow seeded // *Proc. 7th Intern. Rapeseed Congr.* – Poland, Poznan. – 1987. – Vol. 2. – P. 492–495.
11. **Liu Hou-Li, Gao Yong-Tong.** Some fundamental problems conducted from the studies on the breeding of yellow-seeded *Brassica napus* L. // *Proc. 7th Intern. Rapeseed Congr.* – Poland, Poznan. – 1987. – Vol. 2. – P. 476–480.
12. **Chen B.Y., Heneen W.K.** Resynthesized *Brassica napus* L.: A review of its potential in breeding and genetic analyses // *Hereditas.* – 1989. – Vol. 111, N 3. – P. 255–263.
13. **Deynze A.E. Van., Pauls K.P.** The inheritance of seed colour and vernalization requirement in *Brassica napus* using doubled haploid populations // *Euphytica.* – 1994. – Vol. 74, N 1. – P. 77–83.
14. **Халилова Л.А.** Исходный материал для селекции желтосемянного рапса: автореф. дис.... канд. биол. наук. – Краснодар, 2002. – 24 с.
15. **Liu X.P., Tu J.X., Chen B.Y., Fu T.D.** Identification and inheritance of a partially dominant gene for yellow seed color in *Brassica napus* // *Plant Breed.* – 2005. – Vol. 124. – P. 9–12.
16. **Инге-Веттомов С.Г.** Генетика с основами селекции. – М.: Высш. шк., 1989. – 591 с.
17. **Лакин Г.Ф.** Биометрия. – М.: Высш. шк., 1980. – С. 126–134.
18. **Rapp R., Wendel J.F.** Epigenetic and plant evolution // *New Phytologist.* – 2005. – Vol. 168, N 1. – P. 81–91.
19. **Melnyk C.W., Harris C.J.** RNA silencing in plant // *Encyclopedia of molecular cell biology and molecular medicine.* – 2013. – P. 1–46.

Поступила в редакцию 30.04.2015

G.M. OSIPOVA, Doctor of Science in Agriculture, Head Researcher

e-mail: osip@ngs.ru

D.A. POTAPOV, Candidate of Science in Agriculture, Senior Researcher

e-mail: d_potapov@ngs.ru

Siberian Research Institute of Fodder Crops

Krasnoobsk, Novosibirsk District, Novosibirsk Region, 630501

HYBRIDOLOGICAL ANALYSIS OF SEED COAT COLOR IN SPRING RAPE

The hybridological analysis of the self-pollinating spring rape lines with different colors of the seed coats was conducted. Investigations were carried out at the Siberian Research Institute of Fodder Crops, Krasnoobsk, Novosibirsk District, Novosibirsk Region. It has been shown that in various crossing combinations between light- and dark-seeded forms, the F1 seeds had dark-colored coat, which varied from brown to black with a brownish color shade that was significative of a prevalence of dark color over light. The incomplete prevalence of this trait in certain crossing combinations was found. No difference in the results of reciprocal crosses indicates that the determination of the trait studied can be carried out by the nuclear genes. The nine classes of seed coat colors combined in 2 groups of dark- and light-colored seeds were identified. No significant distinctions between the actual and theoretical expected splittings of 15:1 for four crossing combinations, 63:1 for one combination at the standard χ^2 value of 3.84 at the 5% significance level have been found. The splitting of hybrid seeds of the second generation in the 15:1 and 63:1 ratios indi-

cates the participation of two or three pairs of genes in the genetic control of this trait. The problem of instability of yellow seed coat color in spring rape has been discussed, and it has been concluded that the strict isolation of plants does not ensure a constant yellow color of the seed coat, which is subject to modified variability as influenced by environmental conditions and epigenetic trait control mechanisms being insufficiently studied.

Keywords: spring rape, seed coat color, hybridological analysis, chi-square, genetic control.

УДК 633.2: 631.52 (571.1-212.3)

Л.Д. УРАЗОВА, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник,
О.В. ЛИТВИНЧУК, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник

Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа

634050, г. Томск, ул. Гагарина, 3

e-mail: Narym@mail2000.ru

ПОЛИКРОСС-МЕТОД В СЕЛЕКЦИИ БЕКМАНИИ ОБЫКНОВЕННОЙ В ТАЕЖНОЙ ЗОНЕ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Представлены результаты исследований по созданию нового сорта бекмании обыкновенной сенокосного направления использования, климатически и экологически адаптированного к экстремальным условиям таежной зоны Западной Сибири. Исследования проведены в Нарымском отделе селекции и семеноводства Сибирского научно-исследовательского института сельского хозяйства и торфа (г. Томск). В работе с кормовыми злаковыми травами широкое применение получил метод сложногогибридных популяций на уровне межклонового опыления. Как источники высокой урожайности и устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам в создании нового сорта бекмании обыкновенной использовали дикорастущие образцы Томской области. Рассмотрены особенности создания сложногогибридных популяций бекмании обыкновенной в таежной зоне Западной Сибири. При формировании сложногогибридных популяций подбор компонентов произведен на основе оценки общей и специфической комбинационной способности в питомнике поликрасса. Для формирования сложногогибридных популяций использовались образцы, обладающие высокой общей комбинационной способностью не менее чем по трем признакам. Приведены результаты оценки урожайности кормовой массы, семян, облиственности, содержания белка и клетчатки в питомниках поликрасса и конкурсном сортоиспытании. Показано, что метод поликрасса можно успешно применять в селекции бекмании обыкновенной. В результате селекционной работы получен перспективный образец для передачи в Государственное сортоиспытание. Образец обладает высокой урожайностью кормовой массы, высокой отавностью при сенокосном использовании, улучшенными кормовыми достоинствами, устойчивостью к болезням и высокой зимостойкостью. Основные хозяйственно ценные признаки и свойства нового сорта: урожайность зеленой массы 17,0 т/га, сухого вещества – 5,6, семян – 0,25 т/га, облиственность – 58,9 %; зимостойкость – 100 %, содержание сырого протеина – 11,8 %, в отдельные годы до 12,5 %.

Ключевые слова: бекмания обыкновенная, поликросс-метод, селекция многолетних злаковых трав, сложногогибридные популяции.

Бекмания обыкновенная (зубровник луговой, водяной пырей, болотный пырей) (*Beckmannia eruciformis* Host.) – многолетний корневищный злак ярового типа. Введен в культуру во второй половине XIX в., однако до сих пор в посевах используется мало. Имеет значение сенокосного и в