

**АНАЛИЗ СЦЕПЛЕНИЯ ЛОКУСОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ЧИСЛО ВЕГЕТАТИВНЫХ
УЗЛОВ НА ГЛАВНОМ ПОБЕГЕ И ВЕТВЯХ, С ИЗВЕСТНЫМИ
МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ МАРКЕРАМИ
FAGOPYRUM TATARICUM GAERTN.**

ФЕСЕНКО И.Н., доктор биологических наук
ФЕСЕНКО Н.Н., кандидат биологических наук
ФГБНУ «ФНЦ ЗЕРНОБОБОВЫХ И КРУПЯНЫХ КУЛЬТУР»
E-mail: ivanfesenko@rambler.ru

Проанализировано сцепление локусов, контролирующих изменчивость по числу вегетативных узлов на стебле и ветвях первого порядка, с известными морфологическими маркерами гречихи татарской (*Fagopyrum tataricum*). Анализом четырех гибридных комбинаций (к-17 × к-103, к-62 × С9119, к-17 × С9119, к-66 × к-17), в которых различающиеся по аллельному состоянию маркерных генов скрещиваемые линии достоверно различались по числу вегетативных узлов на главном побеге и, в большинстве случаев, на ветвях, установлено, что гены *SMK* и *SPL*, определяющие основные качественные различия между известными типами семян, свободно рекомбинируют с локусами, контролирующими число вегетативных узлов на главном побеге. Для локуса *SMK* показано также отсутствие сцепления с генами, контролирующими число вегетативных узлов на ветвях. Анализом двух гибридных комбинаций (к-17 × С9119 и к-62 × С9119) установлено, что как минимум один из двух выявленных генов, мутации по которым блокируют развитие функционального разделительного слоя (*SHT1* и *SHT2*), проявляет сцепление с генами, контролирующими количественные характеристики метамерного строения зоны ветвления главного побега. Локусы, определяющие изменчивость по числу вегетативных узлов на ветвях, не проявили сцепления с генами *SHT*.

Ключевые слова: *Fagopyrum tataricum*, морфологический маркер, картирование, количественный признак.

Введение

Fagopyrum tataricum Gaertn. (гречиха татарская) – самоопылитель, возделываемый в качестве зерновой культуры в странах юго-восточной Азии [1-4]. Этот вид обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционной для России гречихой обыкновенной (*F. esculentum* Moench). Перспективы его возделывания здесь зависят от создания материала, близкого к современным представлениям о возделываемой гречихе, с характеристиками зерна, соответствующими существующим традициям переработки и потребления.

Изучение частной генетики *F. tataricum* во ВНИИЗБК началось параллельно с исследованиями возможностей практического использования этого вида. Дикая форма характеризуется наличием функционального разделительного слоя на плодоножке; культивируемые и сорные формы несут мутации, препятствующие развитию активного разделительного слоя. Анализом трех комбинаций с участием образцов из разных регионов у *F. tataricum* выявлены две такие мутации (каждая из них способна блокировать развитие функционального разделительного слоя) [5]. Культурные формы отличаются от диких и сорных также определенными особенностями строения семян. Как минимум – это отсутствие выраженных шипов на ребрах (тип "round", рецессивная гомозигота по гену *SMK*); кроме того, существуют формы с легко обрушиваемым зерном так называемого "рисового" типа, с продольным выступом на гранях (признак определяется рецессивной гомозиготой по гену *SPL*) [6].

Несмотря на явно монофилетическое происхождение [7-8], этот вид обладает широким полиморфизмом по числу вегетативных метамеров на главном побеге и ветвях первого порядка, что позволило ему адаптироваться к условиям произрастания в регионах, близких к северной границе земледелия, в качестве сорного растения [9].

В статье представлены результаты анализа сцепления локусов, контролирующих количественные параметры метамерного строения зоны ветвления стебля и верхних ветвей с известными на данный момент маркерными генами *SHT*, *SMK* и *SPL*.

Материал и методы

Растительный материал

Линии *F. tataricum* к-17, к-62, к-66 и к-103 из коллекции ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова; линия С9119 *F. tataricum* ssp. *potanini* из коллекции университета Киото. Характеристики перечисленных образцов, использованные в работе, приведены в разделе Результаты и обсуждение.

Методика. Анализ расщеплений проведен в сентябре, когда на всех растениях в гибридных популяциях были зрелые семена. Опадение семян определялось по наличию функционального разделительного слоя на плодоножке, который хорошо различим через увеличительное стекло (×20). Растения, устойчивые к опадению, не формировали функциональный разделительный слой на плодоножке.

Анализ по форме зерна проведен по двум основным альтернативам, для которых ранее был определен генетический контроль: наличие/отсутствие скульптурных образований ("шипов") на оболочке (доминантный аллель *SMK* определяет наличие шипов, рецессивный аллель *smk* – отсутствие), и бороздка/продольный выступ на грани (доминантный аллель *SPL* – бороздка, рецессивный аллель *spl* – продольный выступ). Гомозигота по рецессивным аллелям обоих локусов формирует семена "рисового" типа, т.е. пригодные для обрушивания (без шипов и с продольным выступом вместо бороздки).

Анализ локализации генов, контролирующей изменчивость количественного признака, проведен с помощью алгоритма, предложенного А.С. Серебровским [10]. Достоверность различий между выборками оценивали с помощью t-критерия [11].

Результаты и обсуждение

Анализ сцепления признаков "число вегетативных узлов на главном побеге и ветвях" и "опадение по разделительному слою"

Проанализировано две гибридные комбинации (табл. 1). В обеих комбинациях родительские формы достоверно различаются по числу вегетативных узлов на главном побеге и первой ветви сверху; достоверные различия по числу вегетативных узлов на второй ветви были только между линиями к-17 и С9119.

Таблица 1

Характеристики родительских форм и гибридов по устойчивости к опадению семян и метамерному строению зоны ветвления главного побега и ветвей

Линия, гибрид	Опадение по разделит. слою (+/-)	Главный побег		1-я ветвь (сверху)		2-я ветвь	
		X±m	t (P)	X±m	t (P)	X±m	t (P)
С9119	+	6,25±0,13	12,10	4,33±0,14	12,03	4,00±0,00	14,50
к-17	-	8,39±0,12	(0,001)	2,26±0,10	(0,001)	2,55±0,10	(0,001)
F ₂ (к-17 × С9119)	+	6,34±0,13	6,85	4,06±0,08	0,50	4,02±0,08	1,16
	-	8,27±0,25	(0,001)	4,12±0,09	(>0,1)	4,16±0,09	(>0,1)
С9119	+	6,05±0,14	9,77	3,25±0,18	3,40	3,20±0,14	1,16
к-62	-	7,79±0,11	(0,001)	2,55±0,10	(0,001)	3,00±0,10	(>0,1)
F ₂ (к-62 × С9119)	+	7,09±0,06	3,70	3,81±0,09	0,82	3,89±0,08	0,53
	-	7,46±0,08	(0,001)	3,70±0,10	(>0,1)	3,83±0,08	(>0,1)

В обеих комбинациях между гибридами F₂ с опадающими и устойчивыми к опадению плодами были достоверные различия по среднему числу вегетативных узлов на главном побеге (t=6,85 (P=0,001) для комбинации к-17 × С9119 и t=3,70 (P=0,001) для комбинации к-62 × С9119). Таким образом, локусы, контролирующие изменчивость по числу узлов, сцеплены по крайней мере с одним из идентифицированных генов, участвующих в контроле развития функционального разделительного слоя на плодоножке.

Анализ сцепления генов, определяющих изменчивость по числу вегетативных узлов, с локусами *SMK* и *SPL*

Локус *SPL* (комбинация к-17 × к-103)

Линия к-17 (семена без шипов) – рецессив по локусу *SMK* (генотип *smk smk/ SPL SPL*); линия к-103 (семена "рисового" типа) – рецессивная гомозигота по обоим локусам (генотип *smk smk/ spl spl*). Эти линии достоверно различаются по числу вегетативных узлов на главном побеге; различий по числу вегетативных узлов на ветвях нет (табл. 2). Сравнения гибридов F₂ (к-17 × к-103), различающихся по форме семян, не выявил достоверных различий по числу вегетативных узлов. Таким образом, гены, определяющие различия по числу узлов на главном побеге между линиями к-17 и к-103, свободно рекомбинируют с локусом *SPL*.

Локус *SMK* (комбинации к-62 × С9119, к-17 × С9119 и к-66 × к-17)

Во всех проанализированных комбинациях линия, гомозиготная по рецессиву *smk*, формировала достоверно больше вегетативных узлов на главном побеге. Различия между родительскими линиями по числу вегетативных узлов на верхних ветвях также в большинстве случаев были достоверными, но в двух случаях из трех больше узлов было у линии, гомозиготной по доминантному аллелю *SMK* (табл. 2).

Выборки гибридов, различающихся по типу семян (наличие/отсутствие шипов), не различались достоверно по числу вегетативных узлов на стебле и на ветвях. Следовательно, гены, определяющие различия по числу вегетативных узлов на главном побеге и ветвях свободно рекомбинируют с локусом *SMK*.

Таблица 2

Анализ сцепления локусов, определяющих метамерное строение зоны ветвления главного побега и ветвей с маркерами *SMK* и *SPL*

Линия, гибрид	Генотип по маркеру	Число вегетативных узлов					
		Главный побег		1-я ветвь (сверху)		2-я ветвь	
		X±m	t (P)	X±m	t (P)	X±m	t (P)
к-17	<i>SPL SPL</i>	7,84±0,13	11,89	2,61±0,11	1,21	3,36±0,09	0
к-103	<i>spl spl</i>	10,20±0,15	(0,001)	2,79±0,10	(>0,1)	3,36±0,10	(>>0,1)
F ₂ (к-17 × к-103)	<i>SPL -</i>	9,06±0,12	0,36	2,77±0,07	0,36	3,41±0,08	0,42
	<i>spl spl</i>	8,97±0,22	(>0,1)	2,71±0,15	(>0,1)	3,35±0,12	(>0,1)
С9119	<i>SMK SMK</i>	6,05±0,14	9,77	3,25±0,18	3,40	3,20±0,14	1,16
к-62	<i>smk smk</i>	7,79±0,11	(0,001)	2,55±0,10	(0,001)	3,00±0,10	(>0,1)
F ₂ (к-62 × С9119)	<i>SMK -</i>	7,27±0,05	0,36	3,79±0,07	0,77	3,87±0,06	0,60
	<i>smk smk</i>	7,23±0,10	(>0,1)	3,89±0,11	(>0,1)	3,93±0,08	(>0,1)
С9119	<i>SMK SMK</i>	6,25±0,13	12,10	4,33±0,14	12,03	4,00±0,00	14,50
к-17	<i>smk smk</i>	8,39±0,12	(0,001)	2,26±0,10	(0,001)	2,55±0,10	(0,001)
F ₂ (к-17 × С9119)	<i>SMK -</i>	7,38±0,19	1,47	4,12±0,08	0,75	4,10±0,07	0,38
	<i>smk smk</i>	6,93±0,24	(>0,1)	4,03±0,09	(>0,1)	4,05±0,11	(>0,1)
к-66	<i>SMK SMK</i>	6,28±0,14	14,66	1,80±0,10	2,95	2,08±0,10	6,29
к-17	<i>smk smk</i>	9,08±0,13	(0,001)	2,16±0,07	(0,01)	2,97±0,10	(0,001)
F ₂ (к-66 × к-17)	<i>SMK -</i>	7,42±0,09	0,18	2,21±0,06	0	2,68±0,07	0,96
	<i>smk smk</i>	7,46±0,20	(>0,1)	2,21±0,10	(>>0,1)	2,53±0,14	(>0,1)

Литература

1. Wang Y.J., Campbell C. Buckwheat production, utilization and research in China // *Fagopyrum*. – 2004. – V.21. – P. 123-133.
2. Lin R., Tao Y., Li X. Preliminary division of cultural and ecological regions of Chinese buckwheat // Proc. 5th Intl. Symp. Buckwheat at Taiyuan (China). – 1992. – P. 29-35.
3. Brunori A., Sandor G., Xie H., Baviello G., Nehiba B., Rabnecz G., Vegvari G. Rutin content of the grain of 22 buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench and *F. tataricum* Gaertn.) varieties grown in Hungary // *The Europ. J. Plant Sci. Biotech.* – 2009. – V.3. – P. 62-65.
4. Fabjan N., Rode J., Kosir I.J., Wang Zh., Zhang Zh., Kreft I. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercitrin // *J. Agric. Food Chem.* – 2003. – V.51. – P.6452-6455. doi: 10.1021/jf034543e
5. Fesenko I.N. Non-shattering accessions of *Fagopyrum tataricum* Gaertn. carry recessive alleles at two loci affecting development of functional abscission layer // *Fagopyrum*, – 2006. – V.23. – P. 7-10.
6. Фесенко И.Н. Генетический анализ изменчивости по форме семян, доступной для использования в селекции гречихи татарской (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) // Доклады РАСХН. – 2012. – № 3. – С. 10-12.
7. Yamane K., Tsuji K., Ohnishi O. Speciation of *Fagopyrum tataricum* inferred from molecular data // Proc. 9th Intl. Symp. Buckwheat at Prague. – 2004. – P. 317-322.
8. Лазарева Т.Н., Фесенко И.Н., Павловская Н.Е. Изменчивость гречихи татарской *Fagopyrum tataricum* Gaertn. по белкам семян, выявляемая электрофорезом в ПААГ // Известия ТСХА. – 2007. – Вып. 3. – С.93-97.
9. Romanova O. Northern populations of tartary buckwheat with respect to day length // Proc. 9th Intl. Symp. Buckwheat at Prague. – 2004. – P. 173-178.
10. Серебровский А.С. Генетический анализ. – М.: Наука, – 1970. – 342 с.
11. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высшая школа, – 1973. – 320 с.

ANALYSIS OF LINKAGE BETWEEN LOCI INFLUENCING NUMBER OF VEGETATIVE NODES ON MAIN STEM AND BRANCHES AND IDENTIFIED MORPHOLOGICAL MARKERS OF *FAGOPYRUM TATARICUM* GAERTN.

I.N. Fesenko, N.N. Fesenko

FSBSI «FEDERAL SCIENTIFIC CENTER OF LEGUMES AND GROAT CROPS»

Abstract: *It was analyzed the linkage of loci controlling the variability of the number of vegetative nodes on the stem and branches of the first order with known morphological markers of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). Analysis of four hybrid combinations ($k-17 \times k-103$, $k-62 \times C9119$, $k-17 \times C9119$, $k-66 \times k-17$) was conducted. In the combinations the crossed lines were differed both in the allelic state of the marker genes and in the number of vegetative nodes on the main stem and, in most cases, on the branches. It was found that the SMK and SPL genes, which determine the main qualitative differences between known seed types, freely recombine with loci that control the number of vegetative nodes on the main stem. For the SMK locus, it was also shown the absence of linkage with the genes controlling the number of vegetative nodes on the branches. Analysis of two hybrid combinations ($k-17 \times C9119$ and $k-62 \times C9119$) revealed that at least one of the two identified genes, mutations for which prevent the development of a functional abscission layer on peduncle (*SHT1* and *SHT2*), manifests linkage with genes controlling quantitative characteristics of metamer structure of the branching zone of the main stem. Loci determining variability of the number of vegetative nodes on the branches did not show linkage with *SHT* genes.*

Keywords: *Fagopyrum tataricum*, morphological marker, mapping, quantitative trait.