

преимущество комплексного применения мочевины ( $N_m$  30 кг/га) и Кристалона на увеличение содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях растений. Установлена прямая корреляционная зависимость между содержанием пигментов в листьях растений и индексом листовой поверхности.

**Ключевые слова:** тритикале яровое, пигменты, хлорофиллы а и b, каротиноиды, индекс листовой поверхности, фенофазы, мочевина, микроудобрения.

Annotation

**Rozhkov A. A.**

**The composition and the ratio of photosynthetic pigments in leaves of spring triticales depending on fertilizing crops with urea and micro fertilizers.**

The results of the three-year study (2007 – 2009) concerning the definition of the dynamics of accumulation of photosynthetic pigments in plants of spring triticales of variety of Loaf Kharkovskiy depending on fertilizing with urea and micronutrients are showed. It was found during the experiment a significant effect of trophic and abiotic factors on both the content and the ratio of photosynthetic pigments in the leaves of plants. Proved the advantage of integrated application of urea ( $N_m$  30 kg/ha) and Kristalon to increase the content of chlorophyll and carotenoids in the leaves of plants. Was defined a direct correlation dependence between the content of pigments in leaves and leaf area index.

**Keywords:** spring triticales, pigments, chlorophyll a and b, carotenoids, leaf area index, phenophases, urea, micro fertilizers.

УДК 633.15:575.224

## **КОНТРОЛЬ АЛЕЛЕЙ ГЕНІВ СТЕРИЛЬНОСТІ У КУКУРУДЗИ ПРИ РОЗМНОЖЕННІ СТЕРИЛЬНИХ ФОРМ НА ОСНОВІ ДВОХ ГЕНІВ ЧОЛОВІЧОЇ СТЕРИЛЬНОСТІ ТА МАРКЕРНОГО ГЕНА**

**М.Ф. ПАРІЙ, кандидат біологічних наук**

**Національний університет біоресурсів і природокористування**

**Я.Ф. ПАРІЙ**

**ТОВ „Всеукраїнський науковий інститут селекції (ВНІС)”**

**Ф.М. ПАРІЙ, доктор біологічних наук**

**Уманський національний університет садівництва**

У роботі наведено розроблену і апробовану систему схрещувань для контролю алелей генів стерильності у стерильних форм в процесі їх розмноження у генетичної системи контрольованого розмноження кукурудзи на основі зчеплених двох генів чоловічої стерильності  $Ms5/ms5$  і  $Ms13/ms13$  та маркерного гена забарвлення зернівки  $A2/a2$ .

**Ключові слова:** кукурудза, схрещування, алелі, гени, чоловіча стерильність.

Розробка нових принципів генетичних систем контрольованого розмноження та їх конкретна реалізація важливий елемент в селекції. Нами (1) запропонована генетична система контрольованого розмноження (ГСКР) на основі зчеплених двох генів чоловічої стерильності ( $Ms5/ms5$  і  $Ms13/ms13$ ) та маркерного гена забарвлення зернівки  $A2/a2$ .

Отримання стерильних форм в цій ГСКР включає опилення стерильних форм із генотипом  $\frac{ms\ a2ms13}{ms5a2ms13}$  тригетерозиготою  $\frac{ms5a2\ ms13}{Ms5A2Ms13}$  і наступне фотоелектричне розділення на світлі і темні зернівки. Світлі зернівки, із яких сформується стерильні рослини, використовують для отримання гібридного насіння.

Відсутність повного зчеплення між маркерним геном і генами стерильності приводить до появи рекомбінантних гамет. На етапі отримання стерильних форм за рахунок перекомбінацій генів будуть появлятися стерильні рослини із одним домінантним геном *Ms13* (із часткою 18%) і *Ms5* (із часткою 9%). Така нестабільність за генами стерильності серед загальної кількості стерильних рослин не дозволяє використовувати їх для повторного циклу відтворення стерильних форм. Це зобов'язує проводити контроль наявності рецесивних алелей генів стерильності *ms5* і *ms13*. Такий контроль необхідно проводити на етапах розмноження компонентів, які використовуються для отримання стерильних форм, а саме стерильного компоненту і запилювача (тригетерозиготного компонента).

Метою роботи є розробка та апробація системи схрещувань для контролю алелей генів стерильності у стерильних форм в процесі їх розмноження у ГСКР на основі зчеплених двох генів чоловічої стерильності і маркерного гена.

**Методика досліджень.** Донорами генів слугували зразки ВІР: *ms5* — С-620, *ms13* — С-626, *a2* — С-1246, С-1256, С-625, С-631 [2]. Для бекросування використовували батьківські форми гібриду Піонер-Гран 3978.

Створення аналогів ліній із необхідними алелями проводили методом бекросування з використанням упереджуючих схрещувань і „сліпого бекросу” із наступною перевіркою наявності рецесивних алелей відповідних генів методом аналізуючих схрещувань [3 – 5]. Апробацію системи схрещувань проводили шляхом запилення створених стерильних форм із одним або двома алелями *ms 5* і *ms 13* та маркерним алелем *a2* із запилювачами, які створювали відповідно поставленим задачам.

**Результати досліджень.** Для апробації розробленої системи необхідно було створити лінії промислових гібридів із необхідними алелями. Конверсію алелей *ms5* і *ms13* проводили шляхом бекросів. Темне забарвлення зернівки кукурудзи визначається алелями п'яти генів: *A1*, *A2*, *C1*, *C2*, *R1*. Наявність в гомозиготному рецесивному стані одного алеля *a2* призводить до відсутності забарвлення [2, 6]. Після шести бекросів були отримані майже ізогенні аналоги ліній промислових гібридів із необхідними алелями. На основі цих ліній проведено апробацію системи схрещувань при розмноженні стерильних форм. Експериментальна перевірка показала, що рівень стерильності рослин, які отримані із світлих зернівок становить 98%.

Для контролю гена *Ms5/ms5* створюють форму гомозиготу за алелем *ms5*. Цю стерильну форму схрещують із гомозиготою і отримуємо гетерозиготу за геном *Ms5*:

$$\frac{Ms13A2\ ms\ 5}{Ms13A2\ ms\ 5} \times \frac{Ms13A2Ms5}{Ms13\ A2\ Ms5}$$

$$\downarrow$$

$$\frac{Ms13A2\ ms\ 5}{Ms13A2\ Ms5}$$

Отриману гетерозиготу використовуються для контролю алелів *Ms5* і *ms5* у стерильних форм. Для цього стерильну форму, яку контролюють за ознакою „стерильність-фертильність”, схрещують із отриманою гетерозиготою. При цьому можливо два варіанти: у стерильної форми є домінантний алель *Ms5*, або домінантний алель *Ms5* відсутній (є рецесивний алель *ms5*).

Розглянемо випадок, коли у стерильної форми є домінантний алель *Ms5* (рис. 1)

Світлі зернівки		Темні зернівки
<u><i>ms13 a2 Ms5</i></u>	X	<u><i>Ms13 A2 ms5</i></u>
<i>ms13 a2 ms5</i>		<i>Ms13 A2 Ms5</i>
Стерильні рослини		Фертильні рослини
↓		
Темні зернівки		Темні зернівки
<u><i>ms13 a2 Ms5</i></u>		<u><i>ms13 a2 ms5</i></u>
<i>Ms13 A2 ms5</i>		<i>Ms13 A2 ms5</i>
Фертильні рослини		Стерильні рослини 25%
Темні зернівки		Темні зернівки
<u><i>ms13 a2 Ms5</i></u>		<u><i>ms13 a2 ms5</i></u>
<i>Ms13 A2 ms5</i>		<i>Ms13 A2 Ms5</i>
Фертильні рослини		Фертильні рослини

**Рис. 1. Контроль алеля *Ms5***

Якщо при схрещуванні появляється у нащадків лише 25% стерильних форм, то це свідчить про наявність домінантного алеля і такі матеріали бракуються до цвітіння.

Розглянемо результати схрещувань при відсутності домінантного алеля *Ms5* у стерильної форми (рис. 2).

Світлі зернівки		Темні зернівки
<u><i>ms13 a2 ms5</i></u>	X	<u><i>Ms13 A2 ms5</i></u>
<i>ms13 a2 ms5</i>		<i>Ms13 A2 Ms5</i>
Стерильні рослини		Фертильні рослини
↓		
Темні зернівки		Темні зернівки
<u><i>ms13 a2 ms5</i></u>		<u><i>ms13 a2 ms5</i></u>
<i>Ms13 A2 ms5</i>		<i>Ms13 A2 Ms5</i>
Стерильні рослини (50%)		Фертильні рослини (50%)

**Рис. 2. Контроль алеля *ms5***

Якщо при схрещуванні у нащадків є 50% стерильних форм то це свідчить про відсутність у стерильної форми домінантного алеля *Ms5*. Такі матеріали не вибраковуються, а проводять розмноження цих форм.

В цілому стерильні рослини запилюємо гетерозиготою за алелем *ms5*. Потім на просторово ізольованій ділянці висівають початкорядно отримане насіння. До початку цвітіння (при викиданні волотей) підраховують кількість стерильних і

фертильних рослин. Якщо у рядку 25% стерильних рослин, то видаляється повністю рядок. Якщо у рядку 50% стерильних рослин, то такі рядки залишаються для розмноження. Після збору урожаю видділяють зернівки із світлим забарвленням. Світлі зернівки поступають для подальшого контролю на наявність доміантного алеля *Ms13*.

Проводять контроль стерильної форми за алелями *Ms13*. Для контролю наявності доміантного алеля *Ms13* створили форму гомозиготу за алелем *ms13*:

$$\frac{ms13 A2 Ms5}{ms13 A2 Ms5}$$

Таку стерильну форму схрещують із гомозиготою і отримуємо гетерозиготу за геном *Ms13/ms13* (рис. 3).

$$\begin{array}{ccc} \frac{ms13 A2 Ms5}{ms13 A2 Ms5} & X & \frac{Ms13 A2 Ms5}{Ms13 A2 Ms5} \\ & \downarrow & \\ & \frac{ms13 A2 Ms5}{Ms13 A2 Ms5} & \end{array}$$

**Рис. 3. Отримання гетерозиготи за алелем *Ms13/ms13***

Схрещуємо гетерозиготу за геном *Ms13/ms13* із стерильною формою, яка пройшла контроль за алелем *ms5*. Якщо стерильна форма має доміантний алель *Ms13*, то у нащадків буде лише 25% стерильних форм і всі нащадки вибраковуються (рис. 4).

$$\begin{array}{ccc} \frac{Ms13 a2 ms5}{ms13 a2 ms5} & X & \frac{ms13 A2 Ms5}{Ms13 A2 Ms5} \\ & \downarrow & \\ \frac{Ms13 a2 ms5}{ms13 A2 Ms5} & & \frac{ms13 a2 ms5}{ms13 A2 Ms5} \\ \text{Фертильні рослини} & & \text{Стерильні рослини (25\%)} \\ \frac{Ms13 a2 ms5}{Ms13 A2 ms5} & & \frac{ms13 a2 ms5}{Ms13 A2 Ms5} \\ \text{Фертильні рослини} & & \text{Фертильні рослини} \end{array}$$

**Рис. 4. Контроль алеля *Ms13***

Якщо стерильна форма має рецесивні алелі *ms13*, то у нащадків буде 50% стерильних форм (рис. 5).

$$\begin{array}{ccc} \frac{ms13 a2 ms5}{ms13 a2 ms5} & X & \frac{ms13 A2 Ms5}{Ms13 A2 Ms5} \\ & \downarrow & \\ \frac{ms13 a2 ms5}{ms13 A2 Ms5} & & \frac{ms13 a2 ms5}{Ms13 A2 Ms5} \\ \text{Стерильні рослини (50\%)} & & \text{Фертильні рослини (50\%)} \end{array}$$

**Рис. 5. Контроль алеля *ms13***

Проводять розмноження цих форм і виділяють світлі зернівки, які дадуть стерильні рослини. Розмноження фертильних рослин дасть 25% світлих зернівок,

які також виділяють і використовують, як стерильні форми. Після такого контролю за алелями відібрані світлі зернівки, які дадуть стерильні форми, використовують для розмноження стерильні форми.

Для розмноження стерильної форми необхідно мати тригетерозиготу  $\frac{ms13a2ms5}{Ms13A2Ms5}$ , яку використовують в якості запилювача.

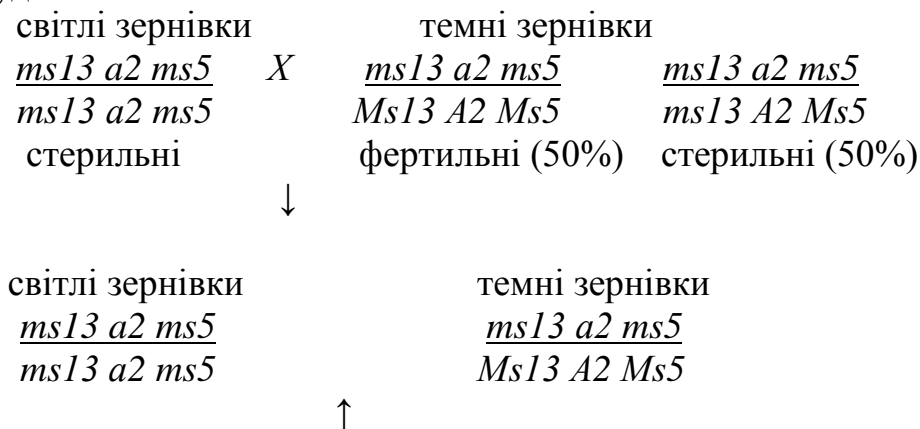
Можливі два варіанти отримання такої тригетерозиготи.

Перший варіант передбачає, що запилювач отримують звичайним схрещуванням:

$$\begin{array}{ccc} \frac{ms13 a 2 ms5}{ms13 a 2 ms5} & X & \frac{Ms13A2Ms5}{Ms13 A2 Ms5} \\ & \downarrow & \\ & \frac{ms13 a 2 ms5}{Ms13 A2 Ms5} & \end{array}$$

При відносно невеликих об'ємах використовують другий варіант отримання тригетерозиготи. Другий варіант аналогічний схрещуванню поданому на рис. 5. В цьому випадку в якості запилювача використовують нащадки схрещування стерильної форми із формою гетерозиготного за геном  $Ms13/ms13$ . Це робиться для того, щоб провести добавочний контроль наявності чи відсутності гетерозигот за геном  $Ms13/ms13$  у стерильної форми. При такому схрещуванні батьківська фертильна форма завжди буде заданого і потрібного генотипу. І, окрім того, контролюється ще кросинговер між алелями  $ms13$  і  $a2$ , що неможливо зробити при отриманні тригетерозиготи за першим варіантом.

Загалом проводимо розмноження стерильної форми в потрібний і розрахунковій кількості (рис. 6). При цьому необхідно враховувати, що світлих зернівок буде 50%.



Фотоелектричне розділення

**Рис. 6. Розмноження стерильних форм**

Після фотоелектричного розділення світлі зернівки, які дадуть стерильні рослини використовують для отримання гібридного насіння.

Ці схеми видаються дещо громіздкими. Але при цьому необхідно враховувати, що контроль алелів гена  $Ms13/ms13$  (рис. 4 і рис. 5) і розмноження стерильних форм проводиться одночасно на одній і тій же ділянці.

До етапу розмноження стерильних форм роботи проводяться в невеликих об'ємах. Посів проводиться початкорядно по окремих рослинах. Проводиться контроль частки стерильних і фертильних рослин і до цвітіння проводять вибраковування сімей, які мають 25% стерильних рослин і залишать сім'ї, які дають 50% фертильних рослин.

**Висновки.** Розроблено систему схрещувати для контролю алелів генів стерильності у стерильних форм в процесі їх розмноження у ГСКР кукурудзи із двома зчепленими ядерними генами чоловічої стерильності *Ms5/ms5 i Ms13/ms13* та маркерного гена забарвлення зернівки *A2/a2*.

Шляхом бекросів створено майже ізогенні аналоги із необхідними алелями для системи схрещувань з ціллю контролю наявності домінантних алелей генів стерильності, на основі яких проведено апробацію системи схрещувань. Показано, що розроблена система дозволяє контролювати заданий рівень стерильності і може бути рекомендована для промислової апробації.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. М.Ф. Парій. Генетична система контрольованого розмноження кукурудзи на основі двох генів чоловічої стерильності та маркерного гена/М.Ф. Парій, Я.Ф. Парій, Ф.М. Парій//Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва. — Умань. — 2012. — Випуск 81. — С. 20 – 27.
2. Мирова коллекция ВИР. Выпуск 396. Генетическая коллекция кукурузы. Ленинград, 1984. — 280 с.
3. Яшовський И.В. Теоретические основы и практическое использование насыщающих схрещиваний в селекции растений. Использование насыщающих схрещиваний и самонесовместимости в селекции сельскохозяйственных растений / И.В. Яшовський // Материалы республиканских семинаров. — Киев. — „Наукова думка”. — 1975. — С. 4 – 15.
4. Я.Ф. Парій Створення аналого лінії F2 з С з введенням алелів генів забарвлення алейронового шару зернівки/ Я.Ф. Парій//. Науковий вісник національного аграрного університету 2002р. — №48, — С. 159 – 165.
5. Патент на винахід №69443, Україна. Спосіб створення ліній кукурудзи з алелями генів забарвлення зернівки./ Парій Я.Ф. 15.09.2004. Бюл. №9.
6. Генетика культурных растений: кукуруза, рис, просо, овес/Под ред.: В.Ф. Дорофеева, Т.С. Фадеевой и Г.Е. Шмараева. — Л.:Агропромиздат,1988. — 272 с.

Одержано 30.04.13

#### Аннотація

**Парій М.Ф., Парій Я.Ф., Парій Ф.Н.**

**Контроль аллелей генів стерильності у кукурузи при розмноженні стерильних форм на основі двох генів мужської стерильності та маркерного гена**

Генетическая система контролированного размножения (ГСКР) на основе сцепленных двух генів мужской стерильности (*Ms5/ms5* и *Ms13/ms13*) та маркерного гена окраски зерновки *A2/a2* в связи с неполным сцеплением между маркерным геном и генами стерильности дает рекомбинантные гаметы и это обязывает проводить контроль наличия рецессивных аллелей генів стерильности *ms5* и *ms13*.

Целью работы есть разработка та апробація системи скрещиваний с целью контроля аллелей генів стерильности у стерильных форм в процессе их размножения в ГСКР на основе сцепленных двух генів мужской стерильности маркерного гена.

Создание аналогов линий с необходимыми алелями проводили методом беккроссирования с использованием упреждающих схрещиваний и „слепого беккросса” с

последующей проверкой наличия рецессивных аллелей соответствующих генов методом анализирующих скрещиваний.

Стерильные растения опыляют гетерозиготой по аллелю *ms5*. Затем на пространственно изолированной делянке высевают початкорядно полученные семена. До начала цветения (при выбрасывании метелок) подсчитывают количество стерильных и фертильных растений. Если в ряду 25% стерильных растений, то удаляется полностью ряд. Если в ряду 50% стерильных растений, то такие ряды остаются для размножения. После уборки урожая отделяют зерновки со светлой окраской. Светлые зерновки поступают для последующего контроля на наличие доминантного аллеля *Ms13*. Аналогично проводят контроль стерильной формы за аллелями *Ms13* и *ms13*. Чтобы провести дополнительный контроль наличия или отсутствия гетерозигот по гену *Ms13/ms13* у стерильной формы в качестве опылителей используют потомки скрещиваний стерильной формы с формой гетерозиготной по гену *Ms13/ms13*.

**Выводы.** Разработана система скрещиваний с целью контроля аллелей генов стерильности у стерильных форм в процессе их размножения в ГСКР кукурузы с двумя сцепленными ядерными генами мужской стерильности *Ms5/ms5* и *Ms13/ms13* и маркерного гена окраски зерновки *A2/a2*.

Путем беккроссов создано почти изогенные аналоги с необходимыми аллелями для системы скрещиваний с целью контроля наличия доминантных аллелей генов стерильности, на основе которых проведена апробация системы скрещиваний. Показано, что разработанная система позволяет контролировать необходимый уровень стерильности и может быть предложена для промышленной апробации.

**Ключевые слова:** кукуруза, скрещивание, аллели, гены, мужская стерильность.

#### Annotation

**Pariy M.F., Pariy Y.F., Pariy F.N.**

#### **Control of alleles of sterility gene in maize breeding of sterile forms on the basis of two gene of male sterility and the marker gene.**

The genetic system of controlled reproduction based on linked two genes of male sterility (*Ms5/ms5* and *Ms13 / ms13*) and marker gene *A2/a2* of color of corn seed, due to incomplete adhesion between the marker gene and sterility genes provides recombinant gametes and it requires to control the presence of recessive alleles of sterility genes *ms5 ms13*.

The purpose of the research is the development and approbation of system of interbreed for alleles of sterility genes control in sterile forms in the process of their reproduction in genetic system of controlled breeding based on two linked genes of male sterility of marker gene.

The sterile plants pollinated with heterozygotes by allele *ms5*. Then, on the dimensionally isolated area the received seed are sowed. By the beginning of flowering (when throwing stalk) counts the number of sterile and fertile plants. If row has 25% of sterile plants, the line removes completely. If row has 50% of sterile plants, these rows remain for reproduction. After harvesting grains of bright colour should be separated. The bright grains come to subsequent control for the presence of a dominant allele *Ms13*. Similarly a control of sterile form for alleles *Ms13i ms13* is conducted. To conduct additional control for the presence or absence of heterozygotes of the gene *Ms13 / ms13* in sterile form as a pollinator uses crossbreeding descendants of sterile form with the form of heterozygotes by the gene *Ms13/ms13*.

**Conclusions.** Developed the system of crossbreeding to control the presence of dominant alleles of genes of sterility in sterile form in the process of their reproduction in genetic system of controlled breeding of maize with two linked nuclear genes of male sterility *Ms5 / ms5* and *Ms13 / ms13* and marker gene of grains colouring *A2/a2*.

By backcrossing way was created almost isogenic analogues of necessary alleles for the system of crossbreeding with the purpose of control the presence of dominant alleles of genes of sterility on which the approbation of crossesbreeding was conducted. It shows that the developed system allows to control a required level of sterility and can be recommended for industrial approbation.

**Keywords:** corn, crossbreeding, alleles, genes, male sterility.