

ВИКОРИСТАННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК ЖИТА ДЛЯ ВИДІЛЕННЯ ПШЕНИЧНО-ЖИТНИХ ХРОМОСОМНО ЗАМІЩЕНИХ ФОРМ ТРИТИКАЛЕ

І. П. Діордієва, аспірант

Ф. М. Парій, доктор біологічних наук

Уманський національний університет садівництва

Стаття присвячена встановленню можливості відбору пшенично-житних хромосомно заміщених форм тритикале за відсутністю морфологічних ознак жита. Показано, що при відборі пшенично-житних хромосомно заміщених форм тритикале серед нащадків за відсутністю ознак жита, зникає потреба в аналізі всіх отриманих форм, так як контроль наявності хромосомного заміщення проводять тільки у тих нащадків, які не мають ознак жита. В результаті досліджень створено та відібрано зразок 116, в якого є пшенично-житне хромосомне заміщення.

Ключові слова: пшенично-житні хромосомні заміщення, тритикале, спельта, ознаки, відбір.

Тритикале – важлива зернова та кормова культура, яка за врожайністю перевищує батьківські форми, але поступається пшениці за якістю продукції [1, 2]. Розв’язання проблеми якості зерна може зробити тритикале однією з найважливіших хлібних культур світу [3]. Створення та виділення пшенично-житних заміщених форм тритикале є ефективним шляхом вирішення цієї проблеми [4, 5].

Гексаплоїдні тритикале (*Triticosecale Wittmack*, $2n = 6x = 42$) поділяють на повнокомплектні, які мають цілий набір хромосом жита і заміщені, в яких одну або декілька пар житних хромосом заміщено на пшеничні. Найбільш перспективними для селекційного поліпшення тритикале є заміщення R/D типу. Так 2R/2D заміщення забезпечує зміну тритикале по ряду ознак – зменшення висоти рослини, формування виповненого зерна, скорочення вегетаційного періоду та ін [6]. Заміщення хромосоми 1R жита на гомеологічну їй хромосому 1D пшениці може покращити хлібопекарські та борошномельні якості тритикале [3].

Отримати пшенично-житні заміщені форми тритикале можна шляхом схрещування тритикале з формами – донорами генома D. Це можуть бути октоплоїдні тритикале або гексаплоїдні пшениці [7, 8]. Пшениця спельта (*Triticum spelta L.*) є гексаплоїдним видом пшениці ($2n = 6x = 42$), який характеризується високим вмістом білка – до 25% [9 – 11]. В зв’язку з тим, що спельта має аналогічний м’якій пшениці геномний склад (ABD) і містить геном D. При схрещуванні тритикале із спельтою можуть виникати пшенично-житні заміщені форми тритикале. Такі форми становлять значний практичний інтерес для селекційного покращення тритикале.

Найпоширеніші способи відбору пшенично-житних заміщених форм – С-бендінг та використання SSR маркерів. Метод С-фарбування хромосом жита та пшениці був розроблений у 1974 р [12, 13]. Він включає диференціальне фарбування хромосом, травлення препаратів 5%ним (насиченим) розчином гідроокису барію, інкубацію в збалансованому буферному розчині ($2 \times SSC$) при $60^\circ C$ і короткочасне фарбування (25 хв.) в барвнику Гімза [14]. SSR маркування передбачає використання різноманітних мікросателітних маркерів для конкретних

хромосом *R* генома жита та *D* генома пшениці. Висновок про присутність тієї чи іншої хромосоми в геномі тритикале роблять за наявності ампліфікації маркера [15, 16]. Обидва методи дозволяють на цитологічному рівні ідентифікувати кожну хромосому жита та пшениці і встановити їх належність до конкретної гомеологічної групи [17]. Але, дані способи передбачають тестування всіх отриманих нащадків. А провести генетичне маркування або цитогенетичний аналіз у великих обсягах досить складно. Тому дані способи потребують значних затрат часу та праці для виділення пшенично-житніх хромосомно заміщених форм.

Відомо, що за сукупністю фенотипових або морфологічних ознак не можна точно ідентифікувати хромосомне заміщення [17]. Але за наявності або відсутності певних ознак можна відбирати форми, в яких очікується хромосомне заміщення і контроль наявності хромосомного заміщення проводити лише серед відібраних форм. Таким чином забезпечується спрощення процесу виділення хромосомно заміщених форм. Встановлення можливості відбору пшенично-житніх хромосомно заміщених форм тритикале за фенотиповими чи морфологічними ознаками є актуальним завданням.

Метою досліджень було встановити можливість відбору пшенично-житніх хромосомно заміщених форм тритикале за відсутністю деяких морфологічних ознак жита.

Методика проведення досліджень. Досліди по створенню та виділенню пшенично-житніх хромосомно заміщених форм тритикале проводились на дослідному полі Уманського національного університету садівництва. Матеріалами для створення пшенично-житніх хромосомно заміщених форм тритикале були сорти тритикале озимого Розівська 6, Розівська 7, Юнга, Ладне та інші форми тритикале і пшениця спельта (*Triticum spelta* L.) сорт Зоря України.

Для створення пшенично-житніх заміщених форм тритикале були проведені схрещування гексаплоїдних тритикале та спельти. В якості материнської форми використовували гексаплоїдні тритикале. Батьківською формою виступала пшениця спельта. Схрещування проводили шляхом кастрації (видалення пиляків) материнської форми і запилення її батьківською формою.

Аналізували на наявність пшенично-житніх заміщень нащадки отримані від схрещування гексаплоїдних тритикале із спельтою. Оцінку нащадків на наявність – відсутність морфологічних ознак жита проводили протягом вегетації. Форми, які характеризувались відсутністю морфологічних ознак жита відбирали, як такі, що мають пшенично-житні хромосомні заміщення.

Перевіряли наявність пшенично-житніх хромосомних заміщень за допомогою «Способу відбору R/D заміщених форм тритикале» [18].

Результати досліджень. Для створення пшенично-житніх заміщених форм тритикале були проведені схрещування гексаплоїдних тритикале (*Triticosecale Wittmack*, *AABBRR*) та спельти (*Triticum spelta* L., *AABBDD*). При гібридизації гексаплоїдного тритикале з м'якою пшеницею (*Triticum aestivum*, *AABBDD*) у гібридів першого покоління (*AABBDR*) геноми *A* та *B* формують в мейозі біваленти і між ними проходить нормальна бівалентна кон'югація. Хромосоми *D* та *R* геномів представлені унівалентами [4]. Під час проходження мейозу, між хромосомами цих геномів не відбувається кон'югація. Унівалентні хромосоми хаотично розходяться між полюсами дочірніх клітин. У таких гібридів формування чоловічих і жіночих гамет в процесі мікро- і макроспорогенезу супроводжується значними аномаліями через відсутність цитогенетичної спорідненості між хромосомами генома *R* тритикале і *D* м'якої пшениці. Це створює сприятливі умови для виникнення різного роду транслокацій і заміщень [8]. Тому при схрещуванні гексаплоїдних тритикале з

м'якою пшеницею виникають 21 хромосомні гамети з пшенично-житнім хромосомним заміщенням [19 – 21].

Оскільки пшениця спельта являється гексаплоїдним видом пшениці, то проходження мейозу і формування форм з пшенично-житнім хромосомним заміщенням у гібридів тритикале та спельти відбувається аналогічно. Внаслідок анеуплоїдії гамет гібридів тритикале та спельти в їх потомстві після беккросування з тритикале формуються хромосомно заміщені форми, у яких одна і рідше дві пари гомологічних хромосом жита заміщені гомеологічними хромосомами пшениці (рис.).

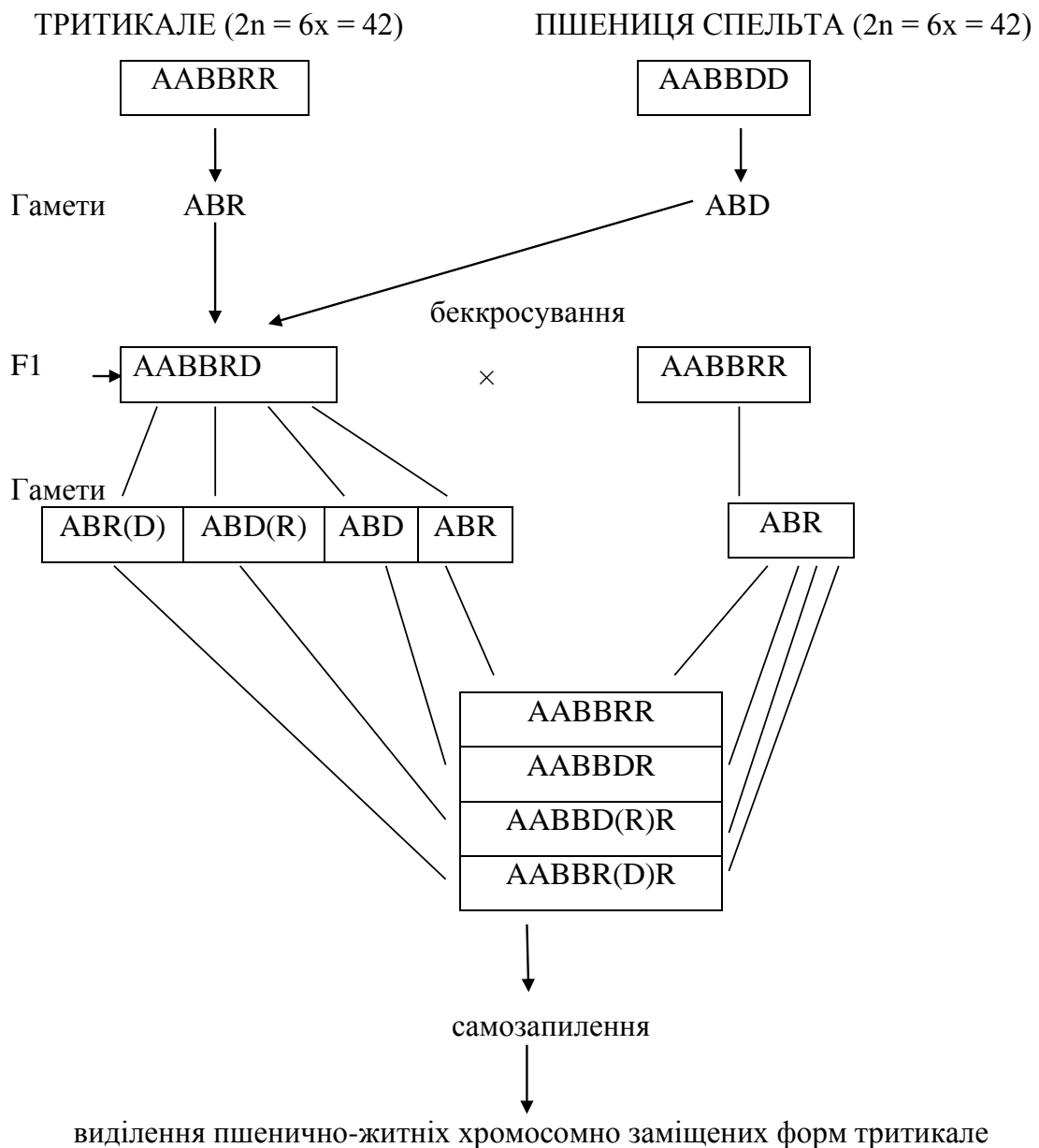


Рис. Схема створення пшенично-житніх хромосомно заміщених форм тритикале

Гібриди першого покоління від таких схрещувань характеризувалися високою стерильністю. Тому дані гібриди беккросували з тривидовим тритикале, в результаті чого були отримані частково фертильні нащадки. Далі отримані нащадки стабілізували. Для цього їх самозапилювали протягом кількох поколінь.

Стабільними вважалися ті нащадки, які характеризувалися високою фертильністю та озерненістю колоса. Таким чином були створені чотиривидові форми тритикале, які поєднують в собі генетичний матеріал чотирьох батьківських видів: пшениці м'якої, пшениці твердої, пшениці спельти та жита. Такі форми характеризуються різними варіантами комбінацій пшеничних геномів *ABD* та житнього генома *R*.

В результаті схрещувань тритикале та спельти були отримані понад 500 зразків чотиривидового тритикале. Серед них були форми з типовим для гексаплоїдних тритикале проявом морфологічних ознак та форми, в яких переважав фенотиповий прояв морфологічних ознак пшениці (таблиця).

Зразкам чотиривидового тритикале 105, 123 та 127 були притаманні всі доміантні ознаки жита, що вказує на присутність в геномі повного набору хромосом жита.

Прояв ознак жита у нащадків від схрещування тритикале та спельти

Зразок \ Ознака	100	105	116	123	127	148	181	358	474
Зелений алейроновий шар ендосперму	+	+	-	+	+	-	-	-	-
Нормальний колос	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Восковий наліт на рослині	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Зімкнутий кущ	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Високе стебло	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Остистість	+	+	-	+	+	+	+	+	+

Примітка: «+» наявність ознаки; «-» відсутність ознаки

Червону зернівку, що притаманно пшениці, мав зразок 148, відповідно даний номер не має ознаки жита «зелений алейроновий шар зернівки». Сланким кущем (домінантна ознака жита «зімкнутий кущ») характеризувались зразки 100 та 181. Відсутність ознак жита у цих зразків може бути пов'язаний з наявністю пшенично-житніх хромосомних заміщень. Скверхедний колос був у зразка 358. Це може бути пов'язано наявністю пшенично-житніх хромосомних заміщень, оскільки відомо, що «скверхедність» – це доміантна ознака пшениці, яка не проявляється у тритикале через сильну експресію генів жита. Зразок 474 виходив за рамки спектру мінливості батьківських форм. Даний зразок був карликовим. Домінантна ознака «карликовість» не властива вихідним формам тритикале та спельті. Тому карликовість даного зразка з високою вірогідністю пов'язана з структурними перебудовами житнього генома *R* та гомеологічних йому пшеничних геномів *ABD*. Зразок 116 мав короткі, відносно колоса остюки і характеризувався відсутністю типової для жита ознаки «остистість». У пшениці ознака «безостість» є доміантною. При створенні тритикале отримуємо остисті форми, незалежно від того, яка пшениця (остиста чи безоста) використовувалась для схрещувань. Це пов'язано з тим, що сильна експресія генів остистості жита пригнічує прояв генів безостості пшениці. Ген остистості жита локалізований в хромосомі 1R [22]. Тому формування дуже вкорочених остюків у цього зразка може бути пов'язане з відсутністю житньої хромосоми 1R. Відповідно ця хромосома може бути заміщена на гомеологічну їй пшеничну хромосому.

Селекційні зразки, 100, 116, 148, 181, 358 та 474 були відібрані для аналізу, як такі, в яких очікуються пшенично-житні хромосомні заміщення.

Контроль наявності пшенично-житнього хромосомного заміщення проводили за допомогою «Способу відбору *R/D* заміщених форм тритикале» [18]. Для цього проводили схрещування тритикале з відомою геномною формулою з тритикале, в яких очікується пшенично-житнє хромосомне заміщення, і за стерильністю гібридів відбирали пшенично-житні хромосомно заміщені форми тритикале.

При схрещуванні тритикале сорту Аватар з відомою геномною формулою із зразками 100, 148, 181, 358 та 474 потомство було фертильним. Це пояснюється присутністю в їх геномі повного набору хромосом житнього генома *R*. В результаті схрещування тритикале сорту Аватар із зразком 116 було отримано стерильне потомство. Це доводить наявність пшенично-житніх хромосомних заміщень у даного зразка.

Таким чином, було створено і відібрано зразок чотири видового тритикале 116, в якого є пшенично-житнє хромосомне заміщення. Подальший електрофоретичний аналіз запасних білків підтвердив наявність у даного зразка пшенично-житнього хромосомного заміщення.

При відборі пшенично-житніх хромосомно заміщених форм тритикале серед нащадків за відсутністю ознак жита, зникає потреба в аналізі всіх отриманих форм шляхом цитогенетичного аналізу або генетичного маркування, так як контроль наявності хромосомного заміщення проводять тільки у тих нащадків, які не мають ознак жита. Це значно зменшує обсяги робіт по виділенню пшенично-житніх хромосомно заміщених форм. Відбір форм із хромосомним заміщенням у такий спосіб скорочує затрати часу на створення нових сортів тритикале з покращеними хлібопекарськими властивостями, отриманих на основі повного пшенично-житнього хромосомного заміщення.

Висновки. 1. Встановлено можливість відбору пшенично-житніх хромосомно заміщених форм тритикале за відсутністю морфологічних ознак жита. Однак, необхідно проводити контроль наявності хромосомного заміщення у відібраних форм.

2. Виділений селекційний зразок 116, в якого є пшенично-житнє хромосомне заміщення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Господаренко Г. М. Хлібопекарські властивості зерна тритикале ярого за різних норм і строків внесення азотних добрив / Г. М. Господаренко, В. В. Любич // Вісник Полтавської державної аграрної академії. — 2010. — № 1. — С. 6 – 9.
2. Олійничук С. О. Культура невибаглива, але перспективна / С. Олійничук, Г. Шматкова, Л. Маринченко // Харчова і переробна промисловість. — 2004. — №4. — С. 10 – 12.
3. Щипак Г. В. Селекция озимых тритикале на улучшение хлебопекарских качеств / Г. В. Щипак, Е. Ю. Суворова, И. А. Панченко, В. Г. Щипак, В. О. Гринь, Д. А. Сотников // Фактори експериментальної еволюції організмів. — К.: Логос, 2009. — С. 337 – 341.
4. Гребенюк І. В. Методи збагачення генофонду тритикале / І. В. Гребенюк // Вісник ЛНУ ім. Тараса Шевченка. — 2010. — № 15. — С. 100 – 117.
5. Дивашук М. Г. Идентификация хромосомных замещений и транслокаций у некоторых форм ярового тритикале: дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.15 «генетика»/ М. Г. Дивашук. — Москва, 2007. — 134 с.
6. Куркиев К. У. Генетические аспекты селекции короткостебловых гексаплоидных тритикале: автореф. дис... д.б.н.: спец. 03.00.15 «Генетика» / К. У. Куркиев. — Москва, 2009. — 38 с.

7. Дубовец Н. И. Создание коллекции хромосомно-замещенных линий гексаплоидных тритикале и ее использование в практической селекции и цитогенетических исследованиях / Н. И. Дубовец, Е. А. Сычева, Л. А. Соловей, Т. И. Штык, Е. Б. Бондаревич // Проблемы і досягнення генетики, селекції та біотехнології. — К.: Логос. — 2012. — С. 55 – 59.
8. Суворова К. Ю. Закономірності формоутворення при гібридизації гексаплоїдних форм тритикале з м'якою пшеницею: автореф. дис... канд. біол. наук: спец. 03.00.15 «Генетика» / К. Ю. Суворова. — Київ, 2002. — 20 с.
9. Белько Н. Б. Создание секалотритикум – экспериментальный ароморфоз и эффективный путь расширения генофонда пшеницы с рожью / Н. Б. Белько, И. А. Гордей, С. А. Хохлова, И. С. Щетько, А. П. Быченко // Стратегия и тактика экономически целесообразной адаптивной интенсификации земледелия: Труды Междунар. научно-практической конференции. — Жодино, 2004. — Т. 2. — С. 28 – 35.
10. Хомякова О. В. Создание исходного материала для селекции тритикале на основе клеточных биотехнологий: автореф. дис... канд. біол. наук: спец. 06.01.05. «Селекція і насінництво» / О. В. Хомякова. — Саратов, 2009. — 21 с.
11. Дымкова Г. В. Сравнительная характеристика синтетических гексаплоидных тритикале с различным количеством межгеномных замещений хромосом / Г. В. Дымкова // Генетика и селекция на рубеже XXI в. — Минск, 1999. — С. 56 – 61.
12. Gill B. S. The Giemsa C-banding karyotype of rye / B. S. Gill, G. Kimber // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — V. 1. — 1974. — P. 1247 – 1249.
13. Gill B. S. The Giemsa C-banding and evaluation of wheat / B.S. Gill, G. Kimber // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — V. 1. — 1974. — P. 4086 – 4090.
14. Щапова А. И. Дифференциальная окраска хромосом у растений *Secale cereale* L. / А. И. Щапова // Цитология. — 1974. — Т. 16. — С. 370 – 372.
15. Gill R. S. Characterization of D/R chromosome segregant lines from triticale × bread wheat crosses using chromosome specific SSR markers / R. S. Gill, N. S. Bains, G. S. Dhindsa // Wheat Information Service. — 2010. — №110. — P. 19 – 23.
16. Lukaszewski A. J. Cytogenetically engineered rye chromosomes 1R to improve bread making quality of hexaploid triticale / A. J. Lukaszewski // Crop Sci. Crop Breeding & Genetics. — 2006. — №8. — С. 2183 – 2194.
17. Силкова О. Г. Передача генетического материала ржи в геном пшеницы с помощью межгеномных хромосомных замещений / О. Г. Силкова, А. И. Щапова, В. К. Шумный // Вестник ВОГиС. — 2008. — №4. — С. 654 – 661.
18. Пат. №89585 Україна. Спосіб відбору R/D заміщених форм тритикале / Ф. М. Парій, М. Ф. Парій, І. П. Діордієва, І. Р. Заболотна, Я. С. Рябовол, В. В. Любич (Україна); заявл. 29.11.13.; опубл. 25.04.14; бюл. №8.
19. Шулындин А. Ф. Скрещиваемость тритикале (2n = 42) с мягкой пшеницей и плодовитость гибридов первого поколения / А. Ф. Шулындин, Н.Г. Максимов // Селекция и семеноводство. — 1972. — №21. — С. 4756.
20. Литвиненко Н. А. Генетические и селекционные аспекты использования озимых гексаплоидных тритикале в селекции озимой мягкой пшеницы / Н. А. Литвиненко, Н. Г. Максимов // Селекція і насінництво. — 2008. — № 96. — С. 15–33.
21. Максимов Н. Г. Цитогенетическая и хозяйственно – биологическая характеристика гибридов октоплоидных тритикале с гексаплоидными / Н. Г. Максимов, П. М. Шарма, В. Н. Тоцкий, В. И. Максимова // Цитология и генетика. — 1998. — Т.32. — №6. — С. 78 – 86.
22. Wang E. M. Genetic variation of rye chromosome 1R in wheat background / J. K. Jing, X. Wang, Y. X. Wen // Ada Cencioo Sinioo (in Chinese). — 1997. — №24. — С. 42.

Одержано 10.09.2014

Аннотация

И. П. Диордиева, Ф.М. Парий

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ РЖИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ХРОМОСОМНО ЗАМЕЩЕННЫХ ФОРМ ТРИТИКАЛЕ

Решение проблемы качества зерна может сделать тритикале одной из важнейших хлебных культур мира. Создание и выделение пшенично-ржаных хромосомно замещенных форм тритикале является эффективным путем решения этой проблемы. Целью исследований было установить возможность отбора пшенично-ржаных хромосомно замещенных форм тритикале за отсутствием некоторых морфологических признаков ржи. Материалами для создания пшенично-ржаных хромосомно замещенных форм тритикале были сорта тритикале озимого Розовский 6, Розовский 7, Юнга, Ладное и другие формы тритикале и пшеница спельта (*Triticum spelta* L.) сорт Заря Украины. Для создания пшенично-ржаных замещенных форм тритикале были проведены скрещивания гексаплоидных тритикале и спельты. Анализировали на наличие пшенично-ржаных замещений потомки полученные от скрещивания гексаплоидных тритикале со спельтой. Формы, которые характеризовались отсутствием морфологических признаков ржи отбирали, как такие, которые имеют пшенично-ржаные хромосомные замещения. Проверяли наличие пшенично-ржаных хромосомных замещений с помощью «Способа отбора R / D замещенных форм тритикале». В результате исследований установлена возможность отбора пшенично-ржаных хромосомно замещенных форм тритикале за отсутствием морфологических признаков ржи. Однако, необходимо проводить контроль наличия хромосомного замещения в отобранных форм. Выделенный селекционный образец 116, у которого есть пшенично-ржаное хромосомное замещения. При отборе пшенично-ржаных хромосомно замещенных форм тритикале в потомстве за отсутствием признаков ржи, исчезает потребность в анализе всех полученных форм путем цитогенетического анализа или генетического маркирования, так как контроль наличия хромосомного замещения проводят только в тех потомков, которые не имеют признаков ржи.

Ключевые слова: пшенично-ржаные хромосомные замещения, тритикале, спельта, признаки, отбор.

Annotation

I. Diordieva, F. Pariy

USING OF MORFOLOGICAL SINGS OF RYE FOR SELECTION WHEAT-RYE CHROMOSOME SUBSTITUTION FORMS OF TRITICALE

Solution of the problem of the quality of grain can make triticales a major cereal crop in the world. Creation and selection of wheat-rye chromosomally substituted forms of triticales is an effective way to solve this problem. The aim of the research was to establish the possibility of selection of wheat-rye chromosomally substituted forms of triticales in the absence of some morphological characters of rye. Material for creating wheat-rye chromosomally substituted forms were the varieties of winter triticales Rozovsky 6, Rozovsky 7, Young, Ladne, and other forms of triticales and spelta wheat (*Triticum spelta* L.) variety Dawn of Ukraine. For creation of wheat-rye chromosomally substituted forms of triticales were conducted crossing between hexaploid triticales and spelta wheat. The offspring obtained by crossing hexaploid triticales and spelta wheat were analyzed for the presence of wheat-rye substitutions. Forms that are characterized by the absence of morphological signs of rye were selected as such which have wheat-rye chromosome substitution. Checking the availability of wheat-rye chromosome substitutions by using the "Tool of selection of R / D substituted triticales forms." As a result of researches it is established opportunity to select wheat-rye triticales chromosomally substituted forms in the absence of morphological signs of rye. However, it is necessary to control the presence of chromosomal substitution in selected forms. The selected sample 116, in which is wheat-rye chromosomal substitution. The selection of wheat-rye chromosomally substituted forms of triticales descendants in the absence of signs of rye, no need to analyze all obtained forms by cytogenetic analysis or genetic labeling as control the availability of chromosome substitution hold only those descendants who have no signs of rye.

Key words: wheat-rye chromosome substitution, triticales, spelta, sings, selection.