

УДК 631.52+165.3

Т.К. ТЕРНОВСЬКА, М.З. АНТОНЮК, Ж.В. ВДОВИЧЕНКО

Національний університет "Києво-Могилянська академія"
вул. Сковороди, 2, Київ, 04070**ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЙ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ЗА ОСТИСТІСТЮ КОЛОСА***Ключові слова: пшениця, егілопс, остистість, генетичний аналіз, мейоз*

Відомо, що остистість колоса м'якої пшениці контролюється трьома генами: *Hd* (4AS), *B1* (5AL) та *B2* (6BL) [10]. Наявність остей – рецесивна ознака. Для формування безостого колосу достатньо присутності домінантних алелів будь-якого з цих генів. У диплоїдних та тетраплоїдних пшениць остистість може домінувати над безостістю [8, 9] хоча гени-промотори остистості дотепер не ідентифіковано.

Нами досліджено інтрогресивні лінії м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) з генетичним матеріалом від *Aegilops sharonensis*, обсяг та локалізація якого у різних лініях розрізняється [6]. Їх було отримано від схрещування тетракомпонента AABВ м'якої пшениці сорта *Аврора* (AABBDD) з диплоїдним видом підтриби *Triticinae* *Ae. sharonensis* Eig., S¹S¹. Гексаплоїдний гібрид AABBDS¹ схрещували з тим самим сортом пшениці та декілька раз беккросували до нього для відновлення фертильності нащадків. Теоретично гексаплоїдні фертильні лінії, які було отримано в результаті цієї роботи, мали один і той самий компонент геному AABВ та розрізнялись за кількістю та структурою хромосом геномів D та S¹ [4]. Лінії відрізнялися одна від однієї декількома морфологічними ознаками, зокрема, ступенем розвитку остей.

Матеріал і методи досліджень

Вивчено такий рослинний матеріал: 1) сорт м'якої пшениці *Аврора*; 2) геномно-заміщена форма *Авросис* (AABBS¹S¹); 3) інтрогресивні лінії *T. aestivum*/*Ae. sharonensis*; 4) гібриди F₁ та F₂ від схрещування ліній одна з однією та з сортом *Аврора*. Рослини класифікували у три групи: остисті, безості, з остевидними відростками.

У гібридів F₁ вивчали мейотичну конфігурацію хромосом у метафазі M1 материнських клітин пилку. Рослини було вирощено у польових умовах. Колос пшениці проходить стадію мейозу, коли знаходиться у трубці між вдругим та третім листками, починаючи від флагового. Пилляки виймали з квіток та фіксували у 2% розчині карміну у 45% оцтової кислоти. Фіксований матеріал зберігали при 4°C. На препаратах реєстрували кількість закритих та відкритих бівалентів, унівалентів, мультівалентів. Гібриди від схрещування рослин з різним складом генома мають облігатні уніваленти, кількість яких залежить від кількості хромосом, за якими розрізняються компоненти схрещування. Кількість облігатних унівалентів враховували для корекції співвідношень розщеплення між фенотиповими класами стосовно теоретично очікуваного (3:1)ⁿ.

Результати досліджень та їх обговорення

Сорт *Аврора* безостий, він має ген *B1* [10]. Ген-промотор остеподібних відростків *b_n* локалізований у хромосомі 6D сорта Кавказ [5], який є сестринською лінією сорта *Аврора* [3]. Цей ген гіпостатичним до *B1* [5]. Можливо, сорт *Аврора* також має цей ген *b_n*. На сорті Казахстанська 126 було показано, що хромосома 6D впливає на розвиток остей [8].

Колос *Ae. sharonensis* має слабо розвинені ості. Отже, вид має нести ген-промотор остистості. Види секції *Sitopsis* підтриби *Triticinae*, до якої належить цей вид, завжди розглядалися як найбільш придатні на роль донора генома В м'якої пшениці. Можна припустити тому, що промотор остистості розташований у хромосомі 6S¹. Амфідиплоїд *Авросис* включає геноми АВ та S¹, має розвинуті остевидні відростки. Тобто він відрізняється від сорта *Аврора* наявністю остевидних відростків, але вони більш слабо розвинуті у порівнянні з видом *Ae. sharonensis*. Інші отримані нами раніше геномно-заміщені амфідиплоїди, які об'єднали той самий тетракомпонент АВ м'якої пшениці з диплоїдним

геномом деяких споріднених пшениці представників *Triticinae* також характеризувалися більш слабким розвитком остей у порівнянні з експресією ознаки у диплоїдного компоненту амфідиплоїда: Авроале (AABBRR), R походить від остистого виду *Secale cereale* L., Авродес (AABBSS), S — від остистого виду *Ae. speltoides*, Авролата (AABBUU), U — від остистого виду *Ae. umbellulata* [4]. Отже, ген *B1* поводиться як ген з неповним домінантним епістазом стосовно гена-промотора розвитку остей чужинного походження. Безостим виявився тільки амфідиплоїд Авротіка (AABVM^tM^t), його третій субгеном, M^t, походить від безостого вида *Ae. mutica* [1].

Серед 17 інтрогресивних ліній (табл. 1) дві були безостими як сорт *Aurora*, три мали остеподібні відростки, як у Аврозиса, решта були остистими. Поява у інтрогресивних лініях рецесивної ознаки може бути пояснена тільки через втрату ними гена *B1*, можливо через делецію частини хромосоми під час схрещувань [(*Аврозис* × *Аврора*)BC₁₋₃ з *Авровою*] [3]. Беручи до уваги інформацію про гомеологію генів у *Triticinae* [1, 10], можна припустити, що ген-промотор остистості егілопсу розташований у хромосомі 6S¹. Крім того, результати оцінки великої кількості створених нами хромосомно-заміщених ліній пшениці з чужинними хромосомами від *Ae. umbellulata*, *Ae. sharonensis*, *Ae. speltoides*, *Agropyron glaucum* показало, що наявність чужинної хромосоми із гомеологічної групи 6 супроводжується появою остей на колосі з різним ступенем експресії ознаки розвитком [1, 2]. Коли субгеном АВ є гомозиготним за геном *B1*, лінії, що містять пару гомологічних хромосом з геном-промотором остистості *awn^p*, демонструють такий фенотип, як у *Аврозиса*, наявність остевидних відростків. Якщо лінія не має генів-промоторів остистості, вона безоста, як сорт *Аврора*. Лінія, в якій є ген *awn^p* проте немає домінантного інгібітора остистості *B1*, характеризується повним розвитком остей. Причому ознака характеризується більшою експресією у порівнянні з розвитком остей у егілопса, від якого отримано ген-промотор. Можливо, це є наслідком адитивної взаємодії цього гена та іншого промотора остистості, *b_n*, розташованого на хромосомі 6D. Лінія з делецією гена *B1* але без гена *awn^p* буде мати остевидні відростки завдяки впливу рецесивного промотора остистості *b_n* (табл. 1).

Всі гібриди F₁ від схрещування остистих ліній одна з однією були остистими. У F₂ від деяких схрещувань було знайдено кілька рослин з остевидними відростками замість повноцінних остей (табл. 2). При досліджуванні цієї групи інтрогресивних ліній за ознакою стійкість до борошнистої роси нами було показано, що гібридологічний аналіз інтрогресивних ліній обов'язково має супроводжуватися вивченням конфігурації хромосом у метафазі 1 мейозу гібридів F₁ від схрещування рослин, які піддаються генетичному аналізу [11]. Наявність обов'язкових унівалентів на цій стадії мейозу виявилось фактором, що спотворює фактичні співвідношення розщеплення у популяціях F₂ проти тих, що очікуються на основі певних припущень про генетичний контроль ознаки [7, 11], оскільки унівалентні хромосоми мають у порівнянні з членами хромосомних пар знижену можливість увійти до складу гамети. А гамети з незбалансованим хромосомним набором (перш за все, чоловічі) характеризуються зниженою життєздатністю. Обидві причини є не тільки факторами спостворення очікуваних співвідношень розщеплення, а і появи у популяціях, що розщеплюються, неочікуваних фенотипових класів.

Таблиця 1

Гіпотетичні генотипи досліджуваних форм пшениці щодо генів, які контролюють остистість колосу

Генотипи зразків в пшениці			Фенотипи зразків пшениці	
5AL	6D	6S ¹		
<i>B1B1</i>	<i>b_nb_n</i>		безості (Б)	Сорт Аврора
<i>B1B1</i>		<i>awn^pawn^p</i>	остевидні відростки (ОВ)	Аврозис
<i>B1B1</i>	<i>b_nb_n</i>		безості	лінії 936, 1166
<i>B1B1</i>		<i>awn^pawn^p</i>	остевидні відростки	лінії 788, 890, 937
<i>del del¹⁾</i>	<i>b_nb_n</i>			
<i>del del</i>	<i>b_nb_n²⁾</i>	<i>awn^pawn^p</i>	остисті (О)	лінії 790, 791, 834, 835, 891, 933, 1023, 1024, 1025, 1026, 1077, 1096

Примітки. 1. Позначено делецію гена *B1*; 2. Наявність чи відсутність гена не впливає на результат розщеплення.

За результатами вивчення хромосомних конфігурацій у метафазі 1 мейоза гібридів F_1 від схрещування остистих інтрогресивних ліній їх можна розділити на дві групи: гібриди першої групи не характеризуються присутністю у метафазі обов'язкових унівалентів (ліва колонка табл. 2). Гібриди другої групи мають мати обов'язкові уніваленти завдяки особливостям структури геному компонентів схрещування (права колонка). Крім обов'язкових у $M1$ мейозу з'являються необов'язкові уніваленти, які свідчать про послаблення гомології між парами гомологічних хромосом.

Таблиця 2

Розщеплення у F_2 від схрещування остистих ліній одна з одною

Схрещування	Фенотип рослин		Схрещування	Фенотип рослин	
	О	ОВ		О	ОВ
Гібриди 1-го типу			Гібриди 2-го типу		
790 x 891	279	4	791 x 1096	23	0
791 x 891	102	0	834 x 891	100	0
933 x 1077	54	0	1096 x 891	154	3
834 x 1077	243	4	834 x 790	224	5
835 x 1096	39	0	1026 x 1077	24	0
891 x 1023	52	2	835 x 1025	120	2
891 x 1023	192	2	891 x 1096	19	4
933 x 835	311	1	933 x 790	165	9
1023 x 791	49	1	1077 x 1026	13	1
1024 x 791	72	1			
1077 x 834	78	1			

Серед 1487 рослин F_2 гібридів першої групи було 16 (1,08±0,27 %) з остевидними відростками, решта остисті. Серед 866 рослин F_2 гібридів другої типу з відростками було 24 рослини (2,77±0,56 %), решта остисті. Ми вважаємо, що поява такої незначної кількості рослин з остевидними відростками у F_2 гібридів першої групи є наслідком цитологічної нестабільності самих інтрогресивних ліній, це було виявлено при їх вивченні. А деяке зростання кількості рослин із остеподібними відростками замість остей у гібридів F_2 другої групи відбувається також і за рахунок унівалентних хромосом, наявних у мейозі гібридів F_1 . При цьому необов'язково досліджуваний ген повинен знаходитися у складі унівалентної хромосоми. Розрахунки показують [11], що загальна нестабільність мейозу гібрида з унівалентними хромосомами призводить до формування у нього різних за хромосомним складом гамет, що відбувається на розщепленні за різними генами, в тому числі і за тими, які з унівалентними хромосомами прямо не пов'язані. Виходячи з цих міркувань, вважаємо, що дані оцінювання першого та другого поколінь від схрещування остистих ліній одна з одною показують, що вони мають однакове генетичне забезпечення щодо ознаки остистість колосу, а вищеплення рослин без остей пов'язане з нестабільним проходженням мейозу та формуванням неочікуваних гамет.

Всі гібриди F_1 від схрещування безостих форм (сорт *Aurora* і лінія 936) з остистими були з остевидними відростками (ОВ), а у F_2 спостерігали розщеплення на остисті, безості та рослини з остевидними відростками. Після перевірки на різномірність результати оцінки декількох комбінацій схрещування були об'єднані з таким результатом розщеплення у F_2 : 262(ОВ) + 144(О) + 83(Б). Виходячи з гіпотетичних генотипів (табл. 1), схрещування можна записати як $B1B1b_n \times del\ del\ awn^P\ awn^P$. У F_2 слід чекати співвідношення класів 8 (ОВ) : 5(О) : 3(Б), зважаючи на такі відповідності між генотипом та фенотипом рослин:

1 del del awn ^P awn ^P (О)	1 B1B1 awn ^P awn ^P	(ОВ)	2 del B1 awn ^P awn ^P (О)
2 del del awn ^P b _n (О)	2 B1B1 awn ^P b _n (Б)		4 del B1 awn ^P b _n (ОВ)
1 del del b _n b _n (ОВ)	1 B1B1 b _n b _n	(Б)	2 del B1b _n b _n (ОВ)

Емпіричні величини класів відповідають теоретичним: 246 (ОВ) + 154 (О) + 92 (Б), $\chi^2=3,01 < \chi^2_{0,05}$ для df=2.

Три лінії з остевидними відростками при схрещуванні з безостим сортом *Аврора* мають різні фенотипи F_1 : гібрид 788 x *Аврора* має остевидні відростки, гібриди 937 x *Аврора* та 890 x *Аврора* – безості. Отже, генетична основа ознаки остевидні відростки у ліній 890 та 937 інша у порівнянні з лінією 788, можливість чого було нами передбачено у попередній пропозиції генотипів (табл. 1). Фенотип гібридів F_1 показує, що генотип $B1B1awn^Pawn^P$ мають лінії 890 та 937. Їх гібрид з сортом *Аврора* ($B1B1b_nb_n$) безостий тому, що є гомозиготним за геном $B1$. Лінія 788 має генотип $del\ del\ b_nb_n$ її гібрид з сортом *Авророю* має генотип $del\ B1\ b_nb_n$ і остевидні відростки тому, що, як ми відзначили ще на початку розгляду проблеми, ген $B1$ поводить ся як ген з неповним домінантним епістазом. Отже, у одній дозі він не інгібує дію промотору остевидних відростків b_n за яким гібрид гомозиготний. У F_2 від схрещування лінії 788 ($del\ del\ b_nb_n$) з безостим генотипом $B1B1b_nb_n$ (лінія 936) чекаємо розщеплення 3 частини з остевидними відростками (1 $del\ del\ b_nb_n$ + 2 $del\ B1\ b_nb_n$) та 1 частина безостих рослин ($B1B1b_nb_n$) і дійсно маємо його, 48 (ОВ) + 19 (Б), $\chi^2=0,40$. Від схрещування лінії 788 з безостим сортом *Аврора* ($B1B1b_nb_n$) маємо 72 ОВ + 23 Б. Від схрещування ліній 937 (ОВ) та 936 (Б) у F_2 чекаємо співвідношення 1 частина з відростками ($B1B1awn^Pawn^P$): 3 частини безостих (1 $B1B1b_nb_n$ + 2 $B1B1awn^Pawn^P$). Класифікація не викликає жодних сумнівів через наявність гомозиготного гену $B1$. Справді, маємо 19 (ОВ) + 54 (Б), $\chi^2=0,04$.

Проте ніяк не можна виключити можливість того, що вивчені лінії з однаковим фенотипом (остисті) мають деякі генетичні відмінності одна від одної, зважаючи на складну та мало вивчену генетичну природу остистості. Не можна бути впевненим, що геном *Ae. sharonensis* має тільки один промотор остистості, за даними нашого дослідження, у хромосомі 6S¹. Не можна також виключити, що субгеном D пшениці несе промотор остевидних утворювань не тільки у хромосомі 6D. Прояснення цього питання потребує подальшого дослідження з залученням у схрещування інших остистих та напівостистих інтрогресивних ліній пшениці, похідних як *Авросису*, так і інших геномно-заміщених амфідиплоїдів.

Висновки

Результатом генетичного аналізу низки інтрогресивних ліній м'якої пшениці за ознакою остистість колосу стала ідентифікація одного гену-промотору остистості, awn^P , у хромосомі 6S¹ *Ae. sharonensis*. Пара цих хромосом входить до складу генома геномно-заміщеного амфідиплоїда *Авросис*, забезпечуючи розвиток остевидних відростків у присутності гомозиготного інгібітора $B1$. У геномі остистих інтрогресивних ліній хромосома 6S¹ присутня тільки частково як транслокація на якусь хромосому, можливо, 6D, але це нами не перевірялося. Ген awn^P гіпостатичний відносно гену $B1$, коли останній є у гомозиготному стані, і проявляється у генотипі $del\ B1$, забезпечуючи напівостистість або великі остевидні відростки. Підтверджено наявність у хромосомі 6D сорту *Аврора* рецесивного гена-промотора остевидних відростків, що було показано раніше для сорту *Кавказ*. Ген гіпостатичний до $B1$, коли він у гомозиготному стані.

1. Антоноук М.З., Терновская Т.К. Признаки морфологии растений как маркеры гомеологических групп хромосом *Triticaceae* // Цитология и генетика. – 1997. – 31, N4. – С. 105–112.
2. Антоноук М.З., Терновская Т.К., Созинов А.А. Идентификация хромосом пырея в чужеродно-замещенных линиях пшеницы с использованием признаков морфологии растений и биохимических маркеров // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук – 1997. – № 12. – С. 4–6.
3. Жиров В.И. Геномы пшеницы и их перестройка: Дис. ... д-ра биол. наук. – Краснодар, 1989. – 586 с.
4. Жиров В.И., Терновская Т.К. Геномная инженерия у пшеницы // Вестник с.-х. науки. – 1984. – N 10. – С. 58–66.
5. Терновская Т.К. Геном D мягкой пшеницы. Наследование некоторых признаков морфологии колоса // Цитология и генетика. 1997. – 31, N4. – С. 11–18.

6. Терновская Т.К., Антоныук М.З., Созинов А.А. Замещенные линии мягкой пшеницы с одной-тремя парами хромосом *Aegilops sharonensis* // Доповіди НАН України. – 199. – 5, N 12. – С. 118–120.
7. Терновская Т.К., Вдовиченко Ж.В. Зависимость результатов генетического анализа самоопыляющихся видов злаков от природы картирующей популяции // Цитология и генетика. – 2003. – 37, № 3. – С. 67–79.
8. Шулембаева К.К., Джалпакова К.Д. Моносомный анализ качественных и количественных признаков яровой мягкой пшеницы сорта Казахская 126 // В кн. Цитогенетика зерновых культур. – Таллин, 1990 – 178 с.
9. Goncharov N.P. Comparative-genetic analysis – a base for wheat taxonomy revision // Czech. J. Plant. Genet. Breed. — 41 (special issue). — P. 52–55.
10. McIntosh R.A., Hart G.E., Devos K.M., Gale M.D., Rogers W.J. Catalogue of gene symbols for wheat. In: A.E.Slinkard (Ed.) Proc. 9-th Intern Wheat Genet. Symp. Saskatoon, Saskatchewan, Canada, 2-7 August, 1998. – University Extension Press, 1998. – Vol. 5. – 235 p.
11. Vdovychenko Zh.V., Antonyuk M.Z., Ternovskaya T.K. Genetic analysis of the *T. aestivum*/*Ae. sharonensis* introgressive lines of common wheat for resistance to powdery mildew // Цитология и генетика. – 2005. – Vol. 39, N 2. – С. 21–30.

T.K. Ternovska, M.Z. Antonyuk, Zh.V. Vdovichenko

GENETIC ANALYSIS OF THE INTROGRESSIVE COMMON WHEAT LINES FOR THE CHARACTER SPIKE AWNEDNESS

The common wheat lines involving the alien genetic material from *Aegilops sharonensis* for the character awnedness were investigated. The plants of hybrid generations F_1 and F_2 were estimated for development of awns. For our data, awns in the lines are promoted by gene *awn^P* situated in chromosome 6S¹. The chromosome configurations in meiosis metaphase in the F_1 hybrids were also investigated for a better understanding of segregation data. The lines with weak half-awn were shown to be a result of either deletion of gene *B1* or presence of gene *awn^P*. When deletion of gene *B1* is combined with the presence of gene *awn^P*, the full awned lines occur.

Рекомендує до друку

Надійшла 22.03.2007

В.А. Соломаха

УДК 631.461.73

Л.О. ЧАЙКОВСЬКА¹, С.В. БЛАЖУК², В.В. ВЕТРОВА³, В.В. КЛЮЧЕНКО³,
О.Л. СМУЛЬСЬКА¹, М.І. БАРАНСЬКА¹

¹Тивденна дослідна станція Інституту с/г мікробіології УААН
Сімферополь

²Кримське відділення Українського державного геолого-розвідувального Інституту

³Кримський агропромисловий коледж НАУ

ВПЛИВ БІОПРЕПАРАТІВ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСВОЄННЯ АГРОФОСКИ ЗЛАКОВИМИ РОСЛИНАМИ

Ключові слова: біопрепарати, агрофоска, продуктивність рослин

Відомо, що фосфорні добрива мають важливе значення у підвищенні врожаю сільськогосподарських рослин. Зумовлено це тим, що в більшості типів ґрунтів рівень вмісту рухомих сполук фосфору нижчий за оптимальний. Так, середній вміст рухомого фосфору в ґрунтах Степу України становить лише 9 мг/100г, в той час як його оптимум для одержання високих урожаїв озимої пшениці становить 15-18 мг/100г [1].