

Н.О. КОЗУБ¹, І.О. СОЗІНОВ¹, В.Т. КОЛЮЧИЙ²,
В.А. ВЛАСЕНКО², Т.О. СОБКО¹, О.О. СОЗІНОВ^{1,3}

¹ Інститут захисту рослин УААН, Київ

² Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла УААН

³ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ

ІДЕНТИФІКАЦІЯ 1AL/1RS ТРАНСЛОКАЦІЇ У СОРТІВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ



В результаті аналізу за спектрами спирторозчинних білків (гліадинів) групи сортів озимої м'якої пшениці різних селекційних центрів України ідентифіковано шість сортів з житньою 1AL/1RS транслокацією. Цю транслокацію несе також лінія 7086 AR. За спектром секалінів ідентифікована 1AL/1RS транслокація аналогічна транслокації сорту Amigo. Поява даної транслокації у сортів, створених в різних селекційних центрах Лісостепу України, свідчить про формування коадаптивних асоціацій генів з її участю.

© Н.О. КОЗУБ, І.О. СОЗІНОВ, В.Т. КОЛЮЧИЙ,
В.А. ВЛАСЕНКО, Т.О. СОБКО, О.О. СОЗІНОВ, 2005

Вступ. Важливим джерелом збагачення генофонду м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. є інтрогресія від споріднених видів. Friebe та ін. [1] зібрано інформацію про 68 чужинних транслокацій, що несуть гени стійкості до хвороб та шкідників. Серед тих, що зустрічаються у комерційних сортах — житня 1AL/1RS транслокація (транслокація короткого плеча хромосоми 1R жита на довге плече хромосоми 1A пшениці). Вона є другою житньою транслокацією за розповсюдженістю після 1BL/1RS [2]. Наприклад, у 1989 р. серед пшениць, що вирощували в США, частка сортів з 1AL/1RS транслокацією складала 4,3 %, а з 1BL/1RS — 7,1 % [3].

Першим сортом м'якої пшениці з 1AL/1RS транслокацією став сорт Amigo, районований у США в 1976 р. Фрагмент житньої хромосоми 1R у 1AL/1RS транслокації Amigo походить від аргентинського сорту жита (*Secale cereale* L.) Insave [4] через сорт октоплоїдного трітікале Gaucho (сорт м'якої пшениці Chinese Spring, Китай / жито Insave). 1AL/1RS транслокація у переважній більшості сортів та ліній США (зокрема, Century, TAM 107, TAM 200, TAM 201, TAM 202, Nekota, Niobrara, OH 416) походить саме від сорту Amigo [2]. Іншу 1AL/1RS транслокацію, що також походить від сорту жита Insave, несе лінія GRS 1201 [5] та ряд споріднених ліній [6].

Для ідентифікації 1AL/1RS транслокацій використовується широкий спектр методів, як і у випадку 1BL/1RS транслокації [7]. Серед них — електрофорез секалінів, спирторозчинних запасних білків, що кодуються локусом *Sec-1* [8–10], цитогенетичний аналіз [11], флуоресцентна *in situ* гібридизація [12, 13]. 1AL/1RS транслокація у Amigo та транслокація у GRS 1201 відрізняються за біохімічними маркерами (секалінами) та ДНК-маркерами (за допомогою ПЛР праймерів до помірно повторюваної житньої ДНК) [10].

1AL/1RS транслокація набула розповсюдження серед комерційних сортів завдяки присутності ряду генів стійкості до шкідників та хвороб. 1AL/1RS транслокація сорту Amigo несе ген стійкості до біотипів попелиці *Schizaphis graminum* В та С *Gb2* [14], ген стійкості до борошнистої роси *Pm17* [15], до кліща *Aceria tosicheilla* (Keifer) [16]. 1AL/1RS транслокація у лінії GRS 1201 несе ген *Gb6*,

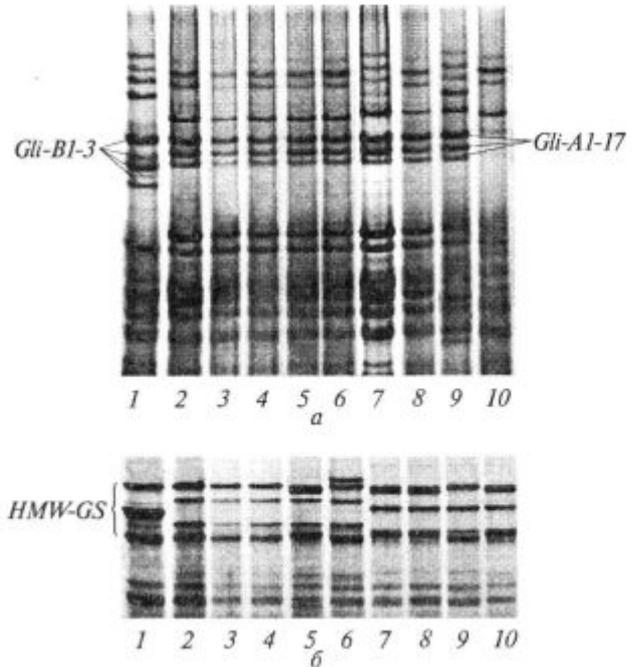
який надає стійкість до широкого спектра біотипів попелиці — В, С, Е, G, I [5].

Відомо, що житня 1BL/1RS транслокація на відміну від 1AL/1RS широко розповсюджена серед українських сортів м'якої пшениці, зокрема серед сортів, створених в Миронівському інституті ім. В.М. Ремесла УААН, завдяки її позитивному впливу на стійкість до ряду захворювань, урожайність, адаптивність [2, 17, 18]. В даній роботі вперше ідентифіковано селекційні лінії та сорти м'якої озимої пшениці української селекції, що несуть 1AL/1RS транслокацію.

Матеріали і методи. Матеріалом дослідження слугували зразки озимої пшениці демонстраційного посіву (56 сортів, Миронівка, 2002 р.), серед яких були сорти, створені в Миронівському інституті ім. В.М. Ремесла УААН (МІП), Білоцерківській селекційній станції Інституту цукрових буряків УААН (БЦСС), в Селекційно-генетичному інституті УААН (СГІ, Одеса), Інституті фізіології рослин і генетики НАНУ (ІФРiГ, Київ) та інших селекційних установах. Додатково провели аналіз 8 сортів БЦСС, отриманих від автора д-ра біол. наук Бурденюк-Тарасевич, 11 сортів селекції ІФРiГ, а також лінії 7086 AR, яку створив О.І. Рибалка (СГІ), сорту Amigo та сортів та ліній, що несуть житню 1BL/1RS транслокацію.

Генотипи сортів за локусами гліадинів та високомолекулярних субодиниць глютенінів визначали електрофорезом запасних білків 10–20 окремих зерновок. Електрофорез гліадинів проводили в кислому середовищі в поліакриламідному гелі [19], електрофорез високомолекулярних (НМВ) субодиниць глютенінів — за методикою Laemmli в 10%-ному розділяючому гелі [20]. Алелі НМВ субодиниць глютенінів ідентифікували за каталогом Payne and Lawrence [21], алелі гліадинів — за каталогом Собко і Поперелі [22] (позначення алелів цифрами).

Результати досліджень та їх обговорення. Блок секалінів, що кодується локусом *Sec-1*, використовували як маркер житньої 1AL/1RS транслокації. Даний блок позначено як алель «17» локуса *Gli-A1* (*Gld 1A*) в каталозі Собко та Поперелі [22]. Електрофоретичний спектр спирторозчинних запасних



Електрофореграма гліадинів (а) та високомолекулярних субодиниць глютенінів (б) сортів та ліній озимої м'якої пшениці, що несуть 1AL/1RS транслокацію, та сортів-стандартів: 1 — Б16; 2 — Колумбія; 3 — Експромт; 4 — Золотоколоса; 5 — Веснянка; 6 — Смуглянка; 7 — Amigo; 8 — Раствавиця; 9 — 7086 AR; 10 — Безоста 1. Блок секалінів *Gli-A1-17* — маркер 1AL/1RS транслокації, блок *Gli-B1-3* — маркер 1BL/1RS транслокації. *HMW-GS* — високомолекулярні субодиниці глютенінів

білків сорту Amigo показано на рисунку (а, трек 7). Спектр секалінів 1AL/1RS транслокації відрізняється від спектра, що кодується генами 1BL/1RS транслокації.

Аналіз досліджуваного матеріалу виявив присутність пшенично-житньої 1AL/1RS транслокації у сортів Експромт (МІП); Колумбія, Золотоколоса, Смуглянка і Веснянка (ІФРiГ, МІП); Раствавиця (БЦСС). Спектр секалінів у цих сортів був подібним до спектра сорту Amigo. Така ж транслокація ідентифікована у лінії 7086 AR, що створена в СГІ (рисунок, а). Спектри НМВ субодиниць глютенінів сортів та ліній з 1AL/1RS транслокацією наведено на рисунку, б. Генотипи даних сортів за локусами запасних білків першої гомеологічної групи — гліадинів (*Gli-B1*, *Gli-D1*) та високомолекулярних субодиниць глютенінів (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*) наведено в таблиці.

Генотипи за локусами запасних білків групи сортів та ліній з 1AL/1RS транслокацією (з блоком *Gli-A1-17*)

Сорт	Генотип за локусом					
	<i>Gli-A1</i>	<i>Gli-B1</i>	<i>Gli-D1</i>	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>
Amigo	17	4	5	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
Раставиця	17	4	1	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
Експромт	17	1	1	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>a</i>
Колумбія	17	1	1	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>a</i>
Золотоколоса	17	1	1	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>a</i>
Веснянка	17	1	1	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
Смуглянка	17	1	1	<i>a</i>	<i>d</i>	<i>a</i>
7086 AR	17	4	4	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>n*</i>

* *n* — алель, інтрогресований від *Aegilops cylindrica* (персональне повідомлення О.І. Рибалка).

Розглянемо групу сортів селекції МІП та ІФРІГ з 1AL/1RS транслокацією (Експромт, Колумбія, Золотоколоса, Веснянка, Смуглянка). Сорти Експромт, Колумбія та Золотоколоса мають ідентичні спектри запасних білків (як гліадинів, так і НМВ субодиниць глютенінів). Сорти Веснянка та Смуглянка не відрізняються від зазначених трьох сортів за гліадинами локусів першої гомеологічної групи, проте сорт Веснянка відрізняється за спектром бета-гліадинів, кодованих локусами шостої гомеологічної групи (рисунок, *a*, трек 5). Ці ж сорти диференціюються від сортів Експромт, Колумбія та Золотоколоса аналізом НМВ субодиниць глютенінів за локусами *Glu-A1* і *Glu-D1* (рисунок, *b*, треки 2—6). За локусом *Glu-A1* сорт Смуглянка несе алель *a*, тоді як сорти Експромт, Колумбія та Веснянка, Золотоколоса несуть алель *b*. Сорт Веснянка — єдиний з групи сортів селекції МІП та ІФРІГ з 1AL/1RS транслокацією, який несе алель *Glu-D1d*, пов'язаний з вищим рівнем хлібопекарної якості [23], порівняно з алелем *Glu-D1a*, який несуть решта сортів. За локусом *Glu-B1* дана група сортів несе алель *d*.

Сорт Раставиця та лінія 7086 AR, як і сорт Amigo, несуть алель 4 в локусі *Gli-B1* та алель *c* в локусі *Glu-B1*, на відміну від описаної вище групи сортів селекції МІП та ІФРІГ, які мають алель 1 в локусі *Gli-B1* та алель *d* в локусі *Glu-B1*. Генотип сорту Раставиця за локусами високомолекулярних субодиниць глютенінів аналогічний генотипу сорту Amigo (рисунок, *b*, треки 7, 8).

Дані про генотипи сортів з 1AL/1RS транслокацією за локусами запасних білків узгоджуються з інформацією про їх походження. Створена в Миронівці гібридно-мутантна популяція F₂ (TAM 107, США/Тракія, Болгарія), оброблена мутагеном (нітрозоетилсечовина (НЕС) — 0,005 %), забезпечила широкий формотворчий процес. Першим селекційно значущим результатом роботи з нею був сорт Експромт (лінія Еритроспермум 25276). Характерними ознаками для нього є висока продуктивність та стійкість до хвороб. В міжнародному Східноєвропейському випробуванні урожайності озимої пшениці (1st WVEERYT, 1998—1999) Еритроспермум 26221, сестринська лінія цього сорту, за урожайністю вийшла на перше місце, а також характеризувалась високою стійкістю до борошнистої роси та стеблової іржі [24]. Ращенко [25] рекомендує селекційними джерелами стійкості до твердої сажки Експромт та його сестринську лінію — Еритроспермум 24220. Домінування високої стійкості до збудників борошнистої роси, бурої іржі та септоріозу було виявлено в більшості гібридних комбінацій, де однією з батьківських форм (частіше материнською) був діяний сорт Експромт [26].

Подальша селекційна робота з лінією Еритроспермум 25276 (фактично вже з Експромтом) продовжувалась шляхом повторної обробки мутагенами. В результаті отримали ряд нових форм, зокрема сорт Колумбія, який став першим таким серед всього загалу занесених (з 2003 р.) до Реєстру сортів рослин України для вирощування у поліській, лісостеповій та степовій зонах. Колумбія має такий запис свого походження: [F₂ (TAM 107, США/Тракія, Болгарія) + мутаген НЕС 0,005%] + мутаген гамма-промені 100 Гр. Походження сорту Золотоколоса — Колумбія + мутаген ДАБ 0,05 %. Цим пояснюється ідентичність цих сортів за спектрами запасних білків (як гліадинів, так і високомолекулярних субодиниць глютенінів). З цієї ж популяції відібрано сорт Веснянка (внесений до державного Реєстру для застосування в поліській, лісостеповій та степовій зонах України з 2005 р.), який є більш скоростиглим за Колумбію. Даний сорт найзначніше від-

різняється від сорту Експромт та його похідних (за локусом *Glu-D1* та спектром бета-гліадинів) (рисунок). Споріднену до нього (ідентичну) вихідну геноплазму має також сорт Смуглянка, але на заключному етапі був застосований інший мутаген (дізоацетилбутан — ДАБ). Походження сорту Смуглянка має такий пропис: [F₂ (ТАМ 107, США/Тракія, Болгарія) + мутаген НЕС 0,005 %] + мутаген ДАБ 0,05 %. Сорт Смуглянка відрізняється від споріднених за генотипом сортів за локусом *Glu-A1* (рисунок, б). За повідомленням автора сорту Растваиця [27], його створено на основі гібридної популяції Century, США/Напівкарлик 3, Україна (Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН).

Як видно з аналізу родоводів, висока комбінаційна здатність носіїв IAL/IRS транслокації (в нашому дослідженні — ТАМ 107, Century) проявилась при поєднанні в схрещуваннях з напівкарликовими сортами, якими є Тракія та Напівкарлик 3. Загалом же носії цієї транслокації, такі як ТАМ 107 і Century та, вірогідно, й деякі інші, є для селекційної роботи з пшеницею ефективними джерелами, більш того — цінними донорами перш за все за ознакою потенційної продуктивності та стійкістю до ряду широко поширених шкідливих хвороб рослин.

Відомо, що присутність IBL/IRS транслокації в геномі пшениці негативно впливає на хлібопекарську якість зерна, а це є одним з лімітуючих факторів її використання [28]. Разом з тим дослідження впливу IAL/IRS транслокації на показники якості показали, що її присутність не приводить до такого різкого зниження цих показників у пшениці, як присутність транслокації IBL/IRS [29]. Порівняльне вивчення обох транслокацій виявило достовірно кращі показники якості (SDS-седиментація та міхогрф толерансе scores) у форм з IAL/IRS транслокацією, що дозволило рекомендувати надати перевагу саме цій транслокації при використанні в селекційних програмах [30, 31].

Отже, через 25 років після появи першого комерційного сорту з IAL/IRS транслокацією (Amigo) в селекційних центрах Лісостепу України створено ряд сортів, що несуть аналогічну транслокацію. Це може свідчити про

формування нових коадаптивних асоціацій генів за участю даного житнього матеріалу.

SUMMARY. Analysis of alcohol-soluble protein (gliadin) patterns of a group of winter common wheat varieties from different breeding centers of Ukraine resulted in identification of six varieties with the rye IAL/IRS translocation. The line 7086 AR also carries this translocation. The identified IAL/IRS translocation is similar to that of the variety Amigo in the secalin pattern. The appearance of this translocation in varieties developed in different breeding centers of the forest-steppe of Ukraine indicates its involvement in coadaptive gene associations.

РЕЗЮМЕ. В результате анализа по спектрам спирто-растворимых белков (глюадинов) группы сортов озимой мягкой пшеницы разных селекционных центров Украины идентифицировано шесть сортов со ржаной IAL/IRS транслокацией. Эту транслокацию также несет линия 7086 AR. По спектру секалинов идентифицированная IAL/IRS транслокация аналогична транслокации сорта Amigo. Появление данной транслокации у сортов, созданных в разных селекционных центрах Лесостепи Украины, свидетельствует о формировании коадаптивных ассоциаций генов с ее участием.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Friebe B., Raupp W.J., Gill B.S. Alien genes in wheat improvement // Wheat in a Global Environment / Eds Z. Bedo and L. Lang. Proc. 6th Intern. Wheat Conf., 5-9 June, Budapest, Hungary. — Kluwer Acad. Publ. — 2001. — P. 709—720.
2. Rabinovich S.V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. // Euphytica. — 1998. — **100**. — P. 323—340.
3. Lukaszewski A.J. Frequency of 1RS/1AL and 1RS/1BL translocations in United States wheats // Crop Sci. — 1990. — **30**. — P. 1151—1153.
4. Sebesta E.E., Wood E.A. Transfer of greenbug resistance from rye to wheat with X-rays // Agron. Abstr. — 1978. — P. 61—62.
5. Porter D.R., Webster J.A., Burton R.L., Smith E.L. Registration of GRS1201 greenbug multi-biotype resistant wheat germplasm // Crop Sci. — 1993. — **33**. — P. 1115.
6. Porter D.R., Webster J.A., Burton R.L., Puterka G.J., Smith E.L. New sources of resistance to greenbug in wheat // Crop Sci. — 1991. — **31**. — P. 1502—1504.
7. Козуб Н.А., Созинов И.А., Созинов А.А. Сопряженность IBL/IRS транслокации с качественными и количественными признаками у мягкой пшеницы

- T. aestivum* // Цитология и генетика. — 2001. — 35, № 5. — С. 74—80.
8. *The T.T., Gupta R.B., Dyck P.L., Appels R., Hohmann U., McIntosh R.A.* Characterization of stem rust resistant derivatives of wheat cultivar Amigo // *Euphytica*. — 1991. — 58. — P. 245—252.
 9. *Собко Т.О.* Генетичний аналіз стійкості до борошнистої роси у сорта озимої м'якої пшениці Amigo // Шляхи раціонального використання земельних ресурсів України : Тези доп. Міжнарод. наук.-практ. конф. молодих вчених і спеціалістів. — Чабани, 1995. — С. 41.
 10. *Graybosch R.A., Lee J.-H., Peterson C.J., Porter D.G., Chung O.K.* Genetic, agronomic and quality comparisons of two 1AL.1RS wheat-rye chromosomal translocations // *Plant Breed.* — 1999. — 118. — P. 125—130.
 11. *Berzonsky W.A., Clements R.L., Lafer H.N.* Identification of «Amigo» and «Kavkaz» translocations in Ohio soft red winter wheats (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet.* — 1991. — 81. — P. 629—634.
 12. *Jiang J., Friebe B., Gill B.S.* Chromosome painting of Amigo wheat // *Theor. Appl. Genet.* — 1994. — 89. — P. 811—813.
 13. *Islam-Faridi M.N., Mujeeb-Kazi A.* Visualization of *Secale cereale* DNA in wheat germplasm by fluorescent in situ hybridization // *Theor. Appl. Genet.* — 1995. — 90. — P. 595—600.
 14. *Sebesta E.E., Wood E.A. Jr., Porter D.R., Webster J.A., Smith E.L.* Registration of Amigo wheat germplasm resistant to greenbug // *Crop Sci.* — 1995. — 35. — P. 293.
 15. *Heun M., Friebe B., Bushuk W.* Chromosomal location of the powdery mildew resistance gene of Amigo wheat // *Phytopathology*. — 1990. — 80. — P. 1129—1133.
 16. *Sebesta E.E., Wood E.A. Jr., Porter D.R. et al.* Registration of Gaucho greenbug-resistant triticale germplasm // *Crop Sci.* — 1994. — 34. — P. 1428.
 17. *Колючий В.Т., Волощук С.И., Олєфиренко С.В.* Биохимическая изменчивость сортов озимой пшеницы по эстеразам, глютенину и глиадину // Интенсификация селекц. процесса зерн. культур. — Мироновка, 1987. — С. 171—180.
 18. *Созінов А.А., Колючий В.Т., Колючая Г.С.* Особенности озимой мягкой пшеницы с 1В/1R хромосомным замещением или транслокацией от ржи // Молекулярно-генетические маркеры растений : Тез. докл. — К.: Аграр. наука, 1996. — С. 68.
 19. *Козуб Н.А., Созінов И.А.* Особенности расщепления по аллелям глиадинкодирующего локуса *Gli-B1* у гибридов озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. — 2000. — 34, № 2. — С. 69—76.
 20. *Laemmler U.K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. — 1970. — 227, № 5259. — P. 680—685.
 21. *Payne P., Lawrence G.* Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat // *Cereal Res. Commun.* — 1983. — 11, № 1. — P. 29—34.
 22. *Собко Т.О., Попереля Ф.О.* Частота, з якою зустрічаються алелі гліадинкодуєчих локусів у сортів м'якої озимої пшениці // Вісн. с.-г. науки. — 1986. — № 5. — С. 84—87.
 23. *Payne P.I., Holt L.M., Jackson E.A., Law C.N.* Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding // *Phil. Trans. Roy. Soc. (London)*. — 1984. — 304. — P. 359—371.
 24. *Results of the 1st Winter Wheat East European Yield Trial (1st WVEERYT 1998—1999) / CIMMYT-Turkey, IWWIP, Ankara, Turkey; Bahri Dagdas, IWCR, Konya, Turkey; Oregon State University, CP, USA.* — 2000. — 43 p.
 25. *Ращенко Л.М.* Тверда сажка озимої пшениці та обґрунтування імунологічних методів захисту : Автореф. дис... канд. с.-г. наук. — К., 2003. — 15 с.
 26. *Кириленко В.В.* Успадкування комплексної стійкості проти листових хвороб та показника седиментації у гібридів F₁ озимої пшениці // Наук.-техн. бюл. Мирон. ін-ту пшениці ім. В.М. Ремесла. — К.: Аграр. наука, 2004. — Вип. 4. — С. 19—25.
 27. *Бурденюк-Тарасевич Л.А.* Напрямки та результати селекції озимої м'якої пшениці з підвищеною адаптивністю до умов Лісостепу і Полісся України: Виступ на VII з'їзді Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова; АР Крим, с. Берегове, 5 червня 2002 р. — Крим, 2002. — 1 с.
 28. *Созінов А.А.* Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. — М.: Наука, 1985.
 29. *Собко Т.А., Хохлов А.Н.* Изучение селекционной ценности пшенично-ржаной транслокации 1AL-1RS сорта озимой мягкой пшеницы Amigo // Агробиотехнологии растений и животных : Тез. докл. Международ. конф. — Киев, 1997. — С. 71—72
 30. *Graybosch R.A., Peterson C.J., Hansen L.E. et al.* Comparative flour quality and protein characteristics of 1BL/1RS and 1AL/1RS wheat-rye translocation lines // *J. Cereal Sci.* — 1993. — 17. — P. 95—106.
 31. *Kumalay A.M., Baenziger P.S., Gill K.S. et al.* Understanding the effect of rye chromatin in bread wheat // *Crop Sci.* — 2003. — 43. — P. 1643—1651.

Надійшла 16.05.05