

КОЗУБ Н. О.^{1, 2✉}, СОЗІНОВ І. О.¹, ДЕМ'ЯНОВА Н. О.^{1, 2}, СОЗІНОВА О. І.^{1, 2}, БЛЮМ Я. Б.²¹ Інститут захисту рослин НААН,

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 33, ORCID: 0000-0002-3572-1786, 0000-0002-3621-5746, 0009-0009-4712-8275, 0000-0002-0981-3433

² ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України»,

Україна, 04123, м. Київ, вул. Байди-Вишневецького, 2а, ORCID: 0000-0001-7078-7548

✉ natalkozub@gmail.com

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ З ТРАНСЛОКАЦІЄЮ 1BL.1RS ТИПУ ВИШИВАНКА

Мета. З використанням секалінових локусів ми ідентифікували нову транслокацію 1BL.1RS у ярого сорту пшениці м'якої Вишиванка. Метою роботи було створення озимих ліній з цією транслокацією та дослідження їх особливостей. **Методи.** Озимі сорти Samurаі та Соломія схрещували з сортом Вишиванка. Для добору гомозигот за транслокацією проводили електрофорез гліадинів у кислому середовищі та SDS-електрофорез. Для родини ліній F₅ від схрещування Samurаі х Вишиванка визначали ознаки продуктивності головного колоса. **Результати.** Аналіз розщеплення у зерен F₂ від схрещування Вишиванка х Соломія показав знижену частоту передачі транслокації через пилокві зерна. Маркерним добром створено озимі лінії з транслокацією типу Вишиванка, які мали стійкість до борошнистої роси на природному фоні. Лінії F₃–F₅, що походять від колоса F₂ 175-1 від схрещування Samurаі х Вишиванка, мали високий ступінь скручування листків. Такі лінії F₅ мали більшу кількість колосків та зерен у колосі ніж у сорту Samurаі, але не відрізнялись за масою зерна з колоса. **Висновки.** Озимі лінії від схрещування з сортом Вишиванка – перспективний селекційний матеріал з новою транслокацією 1BL.1RS зі стійкістю до борошнистої роси, високими ознаками продуктивності колоса та, у випадку мутантів, ознакою скручування листків для створення посухостійких сортів.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., секаліни, стійкість до борошнистої роси, ознаки колоса, скручування листків.

Пшенично-житні транслокації з участю плеча 1RS (1BL.1RS від жита Petkus та 1AL.1RS від жита Insave як у сорту Amigo) залишаються розповсюдженими інтрогресіями серед комерційних сортів пшениці [1]. Для транслокації 1BL.1RS було показано її позитивний вплив на

довжину кореня через меншу кількість генів 12-оксофітодієноат редуктази з підродини III (OPRIII), залученої в біосинтезі жасмонової кислоти, на 1RS (2 гени), порівняно з 4 на 1BS [2], що має позитивний вплив на урожайність в умовах водного дефіциту. Транслокації 1BL.1RS від жита Petkus та 1AL.1RS від жита Insave несуть низку генів стійкості до збудників хвороб [3], проте більшість з них вже втратили ефективність, зокрема, гени стійкості проти збудника борошнистої роси [4]. Тому актуальним напрямком є впровадження нових пшенично-житних транслокацій від інших сортів жита [5–9].

Для ідентифікації транслокацій з участю 1RS застосовуються різні методи, однак найпростішим є аналіз спираторозчинних білків за допомогою електрофорезу в кислому гелі, який одночасно дозволяє визначити не лише присутність транслокації за наявності омега-секалінів, контрольованих локусом *Sec-1* (*Gli-R1*), а і її положення (наприклад, у складі 1BL.1RS чи 1AL.1RS) за наявності або відсутності гліадинів, контрольованих певними гліадиновими локусами. Додатковим маркером для ідентифікації транслокацій можуть слугувати високомолекулярні секалінові компоненти, що кодуються секаліновим локусом *Sec-N* на 1RS і, які спостерігаються на SDS-електрофореграмах носіїв певних транслокацій [10, 11]. З використанням секалінових локусів нами ідентифіковано нову транслокацію 1BL.1RS у ярого сорту Вишиванка [12]. Метою даної роботи було створення озимого матеріалу пшениці з цією транслокацією та дослідження особливостей ліній з цією інтрогресією.

Матеріали і методи

Для створення озимих ліній пшениці м'якої з транслокацією 1BL.1RS типу Вишиван-

ка проводили схрещування озимого пізньостиглого сорту *Samurai* та сорту *Соломія*, вирощеного ярим посівом, з ярим сортом *Вишиванка*. Сорт *Вишиванка* було люб'язно надано Національним центром генетичних ресурсів рослин України (номер Національного каталогу UA0107290). Рослини вирощували на дослідній ділянці Київської обл., с. Гатне. Зерна F_2 висівали восени для відбору озимих генотипів. З рослин F_2 відбирали окремі колоси і проводили маркерний добір гомозигот за присутністю транслокації з використанням електрофорезу запасних білків — електрофорезу гліадинів у кислому середовищі в поліакриламідному гелі за методикою, описаною в [13], та SDS-електрофорезом [14]. Аналізували по 5 окремих зерен з колоса. Зерно з відібраних колосів з транслокацією висівали широкорядним посівом (5 см між рослинами) на дослідній ділянці. Генотип ліній контролювали електрофорезом. Як стандарт генотипу з 1BL.1RS від жита *Petkus* на електрофореграмах використовували лінію B16.

Для аналізу особливостей передачі транслокації типу *Вишиванка* через гамети у гібридів аналізували розщеплення за локусами *Gli-B1/Sec-1* та *Sec-N* у 150 зерен F_2 від схрещування *Вишиванка* х *Соломія* з врахуванням дози гена за допомогою критерію χ^2 . *Соломія* має алель *Gli-B1b*, присутність транслокації від *Вишиванки* тут позначили як *v* (умовно, алель *Gli-B1v*, аналогічно до традиційного позначення *Gli-B1l* для алеля *Sec-1* від жита *Petkus*).

Для родини гомозиготних за присутністю транслокації ліній F_5 (урожай 2024 р.), що походять від колоса F_2 175-1 від схрещування *Samurai* х *Вишиванка*, проводили визначення ознак продуктивності головного колоса (кількість колосків з колоса, маса і кількість зерен з колоса) і підраховували масу 1000 зерен. Ці ж ознаки визначали для колосів сорту *Samurai*. Для оцінки відмінностей використовували *t*-критерій Уелча.

Результати та обговорення

У сорту *Вишиванка* спектр омега-секалінів, які кодуються генами локусу *Sec-1*, є схожим на спектр поширеного блоку *Gli-B1l* від жита *Petkus* (рис. 1, А), проте присутні два додаткові омега-секаліни (позначені стрілками на рис. 1, А). Більш виражені відмінності між цими транслокаціями видно при аналізі запасних білків SDS-електрофорезом. На SDS-електрофо-

реграмі під зоною високомолекулярних субодиниць глютенінів (HMW-GS) у зоні з молекулярною масою приблизно 70 кДа білковий спектр сорту *Вишиванка* має два компоненти, кодовані додатковим локусом *Sec-N*, на відміну від генотипів з «класичною» 1BL.1RS від жита *Petkus* (рис. 1, В).

Аналіз розщеплення у зерен F_2 від схрещування *Вишиванка* х *Соломія* за присутністю омега-секалінів за *Sec-1* та присутністю/відсутністю компонентів на SDS-електрофореграмі у зоні з молекулярною масою близько 70 кДа показав 100 % збіг присутності цих білків і, таким чином, підтвердив розміщення генів, що кодують ці високомолекулярні секаліни, на 1RS (рис. 2). Розщеплення за *Gli-B1/Sec-1* у зерен F_2 *Sec-N* з врахуванням дози гена 47 : 38 : 42 : 23 для генотипів ендосперму зерен *b.b.b* : *b.b.v* : *v.v.b* : *v.v.v* статистично істотно відрізнялось від співвідношення 1 : 1 : 1 : 1 ($\chi^2 = 8,56$, $P < 0,05$) через нижчу частку гомозигот з транслокацією. Аналіз співвідношення гамет з транслокацією і без неї показав знижену частоту передачі транслокації через пилокві зерна ($\chi^2 = 5,23$, $P < 0,05$). Знижена частота передачі транслокації типу *Вишиванка* через гамети є подібною до передачі транслокації з *Gli-B1l* від жита *Petkus*.

Секалінові спектри на електрофореграмах та продукти *Sec-N* на SDS-електрофореграмі використовувались для маркерного добору носіїв транслокації типу *Вишиванка*, починаючи з рослин F_2 . Було відібрано колоси F_2 , гомозиготні за присутністю 1BL.1RS типу *Вишиванка*. На рис. 3 показано спектри спирторозчинних білків зерен нащадків відібраних гомозигот (зерна з рослин F_3).

Лінії F_3 , що походили від колоса F_2 175-1 від схрещування *Samurai* х *Вишиванка*, мали особливість — високий ступінь скручування листків. Сорти *Samurai* та *Вишиванка* мають помірний рівень скручування листків, у сорту *Соломія* скручування відсутнє. Відсутність ознаки сильного скручування листків у нащадків від інших колосів F_2 , гомозиготних за транслокацією, від схрещування *Samurai* х *Вишиванка* та *Вишиванка* х *Соломія* свідчить про те, що лише нащадки колоса 175-1 несуть мутацію сильного скручування листків. Цю ознаку спостерігали у наступних поколіннях нащадків колоса 175-1 — ліній покоління F_4 (2023 р.) і F_5 (2024 р.) (рис. 4).

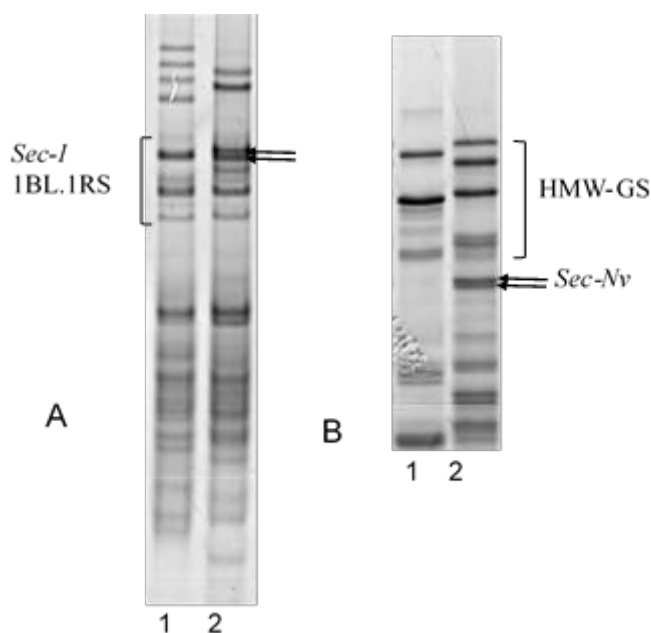


Рис. 1. Електрофоретичні спектри спирторозчинних білків зернівки лінії Б16 (1) і сорту Вишиванка (2) після електрофорезу в кислому середовищі (А) та загальних відновлених білків зерна після SDS-електрофорезу (В). Стрілками показано секалінові компоненти, характерні для сорту Вишиванка. HMW-GS — високомолекулярні субодиниці глютенінів.

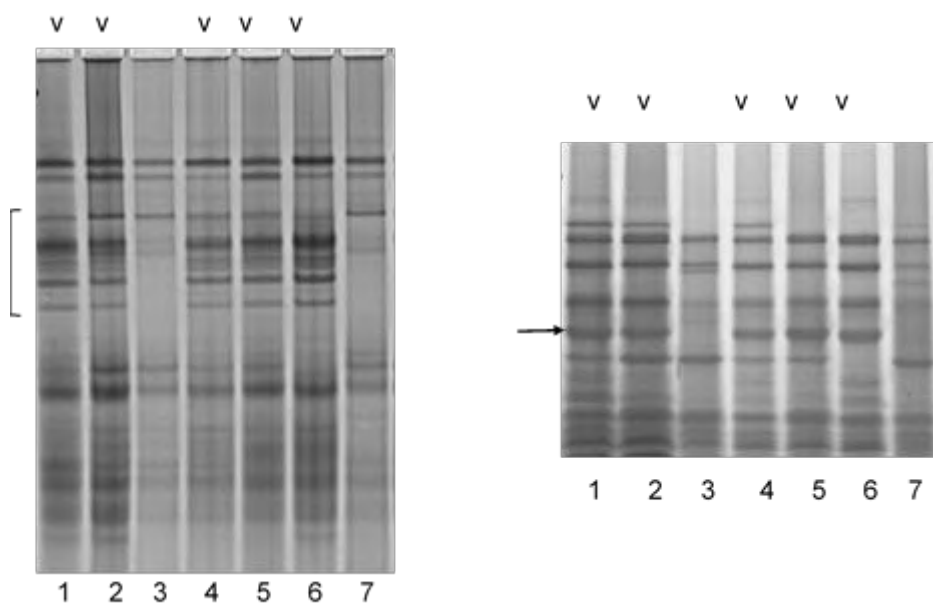


Рис. 2. Електрофоретичні спектри спирторозчинних білків зерен F₂ (1-7) від схрещування Вишиванка x Соломія після електрофорезу в кислому середовищі (А) та загальних відновлених білків цих же зерен після SDS-електрофорезу (В). Стрілкою показано високомолекулярні секаліни від сорту Вишиванка, дужкою — омега-секаліни, v — присутність 1BL.1RS типу Вишиванка.

На високому природному фоні збудника борошнистої роси 2022 р., 2023 р. (у 2024 р. природний фон борошнистої роси був менш вираженим) рослини з транслокацією типу Ви-

шиванка проявили стійкість до борошнистої роси, на відміну від сортів і ліній з 1BL.1RS від жита Petkus з геном *Pm8*.

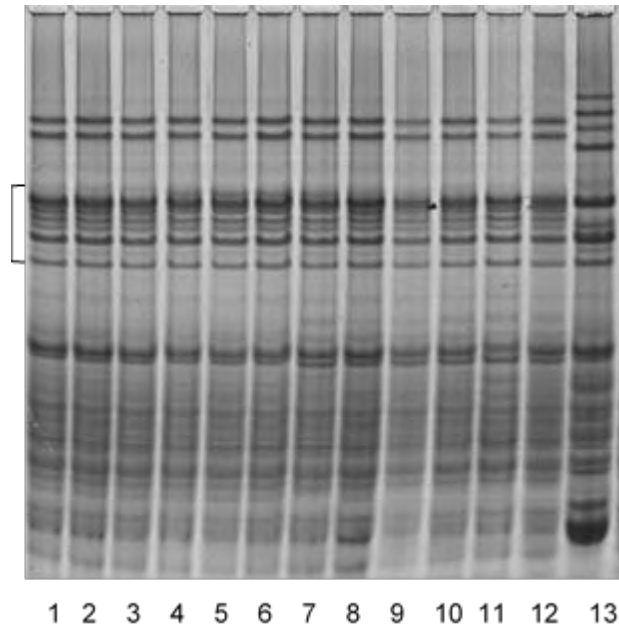


Рис. 3. Електрофоретичні спектри спирторозчинних білків (електрофорез у кислому середовищі) окремих зерен з 4 рослин F_3 (1–12, по 3 зерна з рослини) від схрещування Samurai x Вишиванка з транслокацією типу Вишиванка та лінії Б16 (13) з 1BL.1RS від жита Petkus, дужкою показано — омега-секаліни.



Рис. 4. Рослини ліній F_5 від схрещення Samurai x Вишиванка з транслокацією типу Вишиванка і мутацією сильного скручування листків (09.06.2024).

В умовах 2024 р. лінії SV1-4 F_5 від схрещування Samurai x Вишиванка з транслокацією типу Вишиванка і мутацією сильного скручування листків мали істотно більшу кількість колосків в колосі, ніж у батьківського сорту Samurai, більшу кількість зерен з колоса, але через меншу масу зернівки істотно не відрізнялись за масою зерна з колоса (табл.).

Ознака скручування листків може розгля-

датись як адаптивна стратегія для зменшення транспірації в умовах посухи [15], але при цьому площа фотосинтетичної поверхні знижується. Високі значення ознаки кількість колосків в колосі та кількість зерен з колоса ліній Samurai x Вишиванка з транслокацією свідчить про достатньо високий потенціал поєднання продуктивності й посухостійкості таких ліній.

Таблиця. Середнє значення ознак колоса $\pm$ стандартна похибка у ліній F₅ від схрещування Samurai x Вишиванка (SV1-4) з транслокацією типу Вишиванка і мутацією сильного скручування листків

Лінія, сорт	n	Кількість колосків в колосі	Маса зерна з колоса	Кількість зерен з колоса	Маса 1000 зерен
SV1	31	25,5 $\pm$ 0,4***	2,83 $\pm$ 0,11	84,7 $\pm$ 3,3**	33,96 $\pm$ 1,44***
SV2	33	25,8 $\pm$ 0,4***	3,41 $\pm$ 0,09	86,6 $\pm$ 2,1***	39,52 $\pm$ 0,72*
SV3	31	24,3 $\pm$ 0,3	3,22 $\pm$ 0,12	85,8 $\pm$ 4,5**	38,45 $\pm$ 1,11*
SV4	26	25,4 $\pm$ 0,5**	3,20 $\pm$ 0,18	85,2 $\pm$ 4,0**	38,13 $\pm$ 1,53*
Samurai	24	23,4 $\pm$ 0,4	3,11 $\pm$ 0,13	72,3 $\pm$ 2,2	42,96 $\pm$ 1,24

Примітки: *відмінності порівняно сортом Samurai достовірні при *P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001, n – кількість проаналізованих колосів.

Висновки

Озимі лінії від схрещування з ярим сортом Вишиванка можуть розглядатись як перспективний селекційний матеріал з новою пшенично-житньою транслокацією з ознаками стійкості до борошнистої роси, високими ознаками продук-

тивності колоса та, у випадку мутантів, ознакою скручування листків для створення посухостійких сортів.

Роботу написано за результатами виконання науково-дослідної роботи № ДР 0121U000082.

References

- Graybosch R., Bai G., Amand P.S., Sarath G. Persistence of rye (*Secale cereale* L.) chromosome arm 1RS in wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programs of the Great Plains of North America. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 2019. Vol. 66. P. 941–950. <https://doi.org/10.1007/s10722-019-00742-4>.
- Gabay G., Wang H., Zhang J., Moriconi J. I., Burguener G. F., Gualano L. D., Howell T., Lukaszewski A., Staskawicz B., Cho M. J., Tanaka J., Fahima T., Ke H., Dehesh K., Zhang G. L., Gou J. Y., Hamberg M., Santa-Maria G. E., Dubcovsky J. Dosage differences in 12-oxophytodienoate reductase genes modulate wheat root growth. *Nat. Commun.* 2023. Vol. 14 (1). P. 539. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36248-y>.
- McIntosh R. A. Catalogue of Gene Symbols for Wheat. 2024. https://wheat.pw.usda.gov/GG3/sites/default/files/data_downloads/%20Catalogue%20of%20Gene.
- Parks R., Carbone I., Murphy J.P., Marshall D., Cowger C. Virulence structure of the Eastern US wheat powdery mildew population. *Plant Dis.* 2008. Vol 92 (7). P. 1074–1082. <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-7-1074>.
- Li Z., Ren Z., Tan F., Luo P., Ren T. Molecular cytogenetic characterization of novel 1RS.1BL translocation and complex chromosome translocation lines with stripe rust resistance. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23 (5). P. 2731. <https://doi.org/10.3390/ijms23052731>.
- Li Z., Jiang Q., Fan T., Zhao L., Ren Z., Tan F., Luo P., Ren T. Molecular cytogenetic and physiological characterization of a novel wheat-rye T1RS.1BL translocation line from *Secale cereal* L. Weining with persistence to stripe rust and functional "Stay Green" trait. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23 (9). P. 4626. <https://doi.org/10.3390/ijms23094626>.
- Ren T., Jiang Q., Sun Z., Ren Z., Tan F., Yang W., Li Z. Development and Characterization of Novel Wheat-Rye 1RS·1BL Translocation Lines with High Resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*. 2022. Vol. 112 (6). P. 1310–1315. <https://doi.org/10.1094/PHTO-07-21-0313-R>.
- Szakács É., Szőke-Pázsik K., Kalapos B., Schneider A., Ivanizs L., Rakszegi M., Vida G., Molnár I., Molnár-Láng M. 1RS arm of *Secale cereale* 'Kriszta' confers resistance to stripe rust, improved yield components and high arabinoxylan content in wheat. *Sci. Rep.* 2020. Vol. 10 (1). P. 1792. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58419-3>.
- Li Z., Ren Z., Tan F., Luo P., Ren T. Molecular Cytogenetic Characterization of Novel 1RS.1BL translocation and complex chromosome translocation lines with stripe rust resistance. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23 (5). P. 2731. <https://doi.org/10.3390/ijms23052731>.
- Kozub N. A., Motsnyi I. I., Sozinov I. A., Blume Ya. B., Sozinov A. A. Mapping a new secalin locus on the rye 1RS arm. *Cytol. Genet.* 2014. Vol. 48 (4). P. 203–207. <https://doi.org/10.3103/S0095452714040021>.
- Kozub N., Sozinov I., Karelov A., Bidnyk H., Demianova N., Sozinova O., Blume Ya., Sozinov A. Studying recombination between the 1RS arms from the rye Petkus and Insave involved in the 1BL.1RS and 1AL.1RS translocations using storage protein loci as genetic markers. *Cytol. Genet.* 2018. Vol. 52 (6). P. 440–447. <https://doi.org/10.3103/S0095452718060063>.
- Karelov A. et al. Molecular detection of resistance to biotic stress conditions in spring bread wheat cultivars. *Innovative Approaches and Applications for Sustainable Rural Development* / ed. by A. Theodoridis, A. Ragkos, M. Salampasis. Cham, 2019. P. 305–324. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02312-6_18.
- Kozub N. A., Sozinov I. A., Sobko T. A., Kolyuchii V. T., Kuptsov S. V., Sozinov A. A. Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine. *Cytol. Genet.* 2009. Vol. 43 (1). P. 55–62. <https://doi.org/10.3103/S0095452717020050>.

14. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970. Vol. 227 (5259). P. 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>.
15. Ali Z., Merrium S., Habib-ur-Rahman M. Hakeem S., Saddique M. A. B., Sher M. A. Wetting mechanism and morphological adaptation; leaf rolling enhancing atmospheric water acquisition in wheat crop – a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2022. Vol. 29. P. 30967–30985. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-18846-3>.

KOZUB N. O.^{1,2}, SOZINOV I. O.¹, DEMIANOVA N. O.^{1,2}, SOZINOVA O. I.^{1,2}, BLUME Ya. B.²

¹ *Institute of Plant Protection, NAAS,*

Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 33

² *Institute of Food Biotechnology and Genomics, NAS of Ukraine,*

Ukraine, 04123, Kyiv, Baidy-Vyshnevetskogo str., 2a

CHARACTERISATION OF WINTER BREAD WHEAT LINES WITH THE 1BL.1RS TRANSLOCATION OF THE VYSHYVANKA TYPE

Aim. We identified a new 1BL.1RS translocation in the spring bread wheat variety Vyshyvanka using secalin loci. The aim of the work was to develop winter lines with this translocation and to study their characteristics. **Methods.** The winter varieties Samurai and Solomiya were crossed with Vyshyvanka. To select homozygotes for the translocation, acid electrophoresis of gliadins and SDS-electrophoresis were performed. For the family of F₅ lines from the cross Samurai x Vyshyvanka, yield-related traits of the main spike were determined. **Results.** The analysis of segregation in F₂ seeds from the cross Vyshyvanka x Solomiya showed a reduced frequency of transmission of the translocation through pollen grains. Via marker-assisted selection, we developed winter lines with the Vyshyvanka-type translocation that were resistant to powdery mildew against the natural background. The F₃–F₅ lines derived from F₂ spike 175-1 from the cross Samurai x Vyshyvanka showed a high degree of leaf rolling. Those F₅ lines had a higher number of spikelets and grains per spike than Samurai but did not differ in grain weight per spike. **Conclusions.** Winter lines from crosses with Vyshyvanka are promising breeding material with the new 1BL.1RS translocation with resistance to powdery mildew, high spike yield-related traits and, in the case of mutants, the rolled leaf character for the development of drought tolerant varieties.

Keywords: *Triticum aestivum* L., secalins, powdery mildew resistance, spike traits, rolled leaf.