

ПОШИРЕННЯ ПШЕНИЧНО-ЖИТНЬОЇ ТРАНСЛОКАЦІЇ В ЗРАЗКАХ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ

На сьогоднішній день у багатьох країнах світу пшенично-житні транслокації широко використовуються селекціонерами для поліпшення цінних господарських ознак пшениці. У пшениці [1] описано понад 68 різноманітних транслокацій, які несуть гени стійкості до хвороб та шкідників. Серед них особливе господарське значення мають лише п'ять, у тому числі й пшенично-житня транслокація. Поширення одержали сорти м'якої пшениці, що містять пшенично-житню транслокацію 1BL.1RS, у меншій мірі – транслокацію 1AL.1RS.

Найбільш поширеною чужорідною інтродуцією серед комерційних сортів пшениці м'якої є пшенично-житні транслокації 1BL.1RS і 1AL.1RS [2]. Джерелом 1BL.1RS транслокацій у сучасних сортів пшениці м'якої в основному служить лінія Riebesel 47-51, створена Г. Рібезелем (G. Riebesel), з транслокацією від жита сорту Petkus (2x) [3]. 1AL.1RS транслокація в більшості випадків походить від сорту *Amigo*, яка була отримана від аргентинського сорту жита (*Secale cereale* L.) *Insave* [4]. Відомо, що присутність в геномі пшениці м'якої 1BL.1RS транслокацій негативно позначається на хлібопекарських якостях [5]. Це можна частково компенсувати наявністю у сортів алелей з позитивним впливом на якість зерна за іншими локусами, зокрема по локусам HMW субодиноць глутенінів. Дослідження ефекту 1AL.1RS транслокацій на прояв агрономічних ознак показали, що її присутність не призводить до різкого зниження якості зерна, як у варіанті з 1BL.1RS [6, 7].

Сорти пшениці з 1BL.1RS транслокацією, як правило, містять гени, які контролюють стійкість до таких грибних патогенів, як бура іржа (*Lr26*), стеблова іржа (*Sr31*), жовта іржа (*Yr9*), борошниста роса (*Pm8*) [8–11] та інші гени стійкості до хвороб та шкідників [11]. Транслокація 1AL.1RS набула розповсюдження серед комерційних сортів завдяки присутності генів стійкості до біотипів попелиці (*Gb2*, *Gb6*), борошнистої роси (*Pm17*), кліща [12]. Рослини з житньою транслокацією можуть бути посухостійкими, з

підвищеною адаптивною здатністю, у них збільшується врожайність, вміст білка в зерні [13, 14]. Для ідентифікації пшенично-житньої транслокації застосовують кілька методів: біохімічний, цитологічний і метод ДНК-маркерів.

На підставі аналізу літератури можна відзначити, що використання сортів з ідентифікованими пшенично-житніми транслокаціями становить інтерес для подальшої адаптивної селекції.

Метою нашої роботи була ідентифікація пшенично-житньої транслокації в зразках пшениці м'якої озимої української селекції.

Матеріали і методи

У роботі використано 57 зразків пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.), створених в Інституті рослинництва ім. В.Я. Юр'єва, м. Харків (ІР) – 19 зразків, Селекційно-генетичному інституті, м. Одеса (СГІ) – 20 зразків, Миронівському інституті пшениці ім. В. М. Ремесло (МІП) у співпраці з Інститутом фізіології рослин і генетики (ІФРiГ) – 18 зразків, м. Київ. Перелік сортів представлено в таблиці 1.

Для вивчення пшенично-житньої транслокації в сортах пшениці м'якої озимої застосовували такі ДНК-маркери – RIS та SCM9 (табл. 2). В якості контролю наявності пшенично-житньої транслокації використовували ізогенну лінію сорту *Thatcher* (*TcLr26*) [15].

ДНК виділяли з суміші п'яти насінин набором реагентів для виділення ДНК з біологічного матеріалу Diatom DNA Prep100 (Неоген). Наявність пшенично-житньої транслокації вивчали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Ампліфікацію ДНК проводили в пробірках з ліофілізованим набором реактивів для ПЛР (GenePak PCR core) в ампліфікаторі Терцик (Росія). Кінцевий об'єм реакційної суміші складав 20 мкл і містив 3 мкл ДНК та 1 мкМ кожного праймеру, 15 мкл розчинника. Для ампліфікації використовували стандартну програму. Первинна денатурація 95 °C – 3 хв, 1 цикл, з послідовними 30 циклами: 94 °C – 45 с, 60 °C – 60 с, 72 °C – 90 с, кінцева елонгація 72 °C – 3 хв.

Таблиця 1

Вихідний матеріал зразків пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.)

№ з/п	Назва зразка	№ з/п	Назва зразка	№ з/п	Назва зразка
	Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН		Селекційно-генетичний інститут НААН		Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла НААН сумісно з Інститутом фізіології рослин і генетики НАНУ
1	Харьковская 11	20	Годувальниця одеська	40	Снігурка
2	Харьковская 90	21	Єдність	41	Подольянка
3	Харківська 105	22	Дальницька	42	Крижинка
4	Харьковская 81	23	Куяльник	43	Фаворитка
5	Полукарлик 3	24	Оксана	44	Богдана
6	Досконала	25	Зміна	45	Золотоколоса
7	Дорідна	26	Вдала	46	Смуглянка
8	Харус	27	Господиня	47	Колумбія
9	Василина	28	Запорука	48	Солоха*
10	Астет	29	Заможність	49	Сонечко*
11	Альянс	30	Бунчук	50	Нива Київщини*
12	Розкішна	31	Благодарка одеська	51	Славна
13	Гордовита	32	Жайвір	52	Лимарівна*
14	Линия 831/10	33	Борвій	53	Спасівка
15	Стагна	34	Ластівка одеська	54	Чигиринка*
16	Дбайлива	35	Голубка одеська	55	Полесская 90**
17	Фермерка	36	Ватажок	56	Мироновская 808
18	Запашна	37	Ніконія	57	Українка
19	Линия 808/10	38	Прокофьевка		
		39	Лея		

Примітка: * сорти селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАНУ, ** сорт Національного наукового центру «Інституту землеробства Української академії аграрних наук».

Таблиця 2

Характеристика маркерів для визначення пшенично-житньої транслокації

Назва маркера	Тип маркера	Послідовність
RIS	Не тандемні повтори	F: TAATTTCTGCTTGCTCCATGC R: ACTGGGGTGCCTGGATTAG
SCM9	Мікросателітний маркер	F: TGACAACCCCTTTCCCTCGT R: TCATCGACGCTAAGGAGGACCC

Продукти ампліфікації візуалізували методом електрофореза в 2 % агарозному гелі в боратному буфері з низькою іонною силою, для візуалізації ДНК в ультрафіолетовому світлі використовували бромистий етидій (на 300 мл 2 % агарозного геля – 20 мкл). Електрофорез проводили в горизонтальному приборі Hoefer SuperSub100. В якості маркерів молекулярної маси використовували DNA ladders 50. Отримані гелі документували з використанням фотосистеми Nikon. Для визначення кількості і розмірів продуктів ампліфікації застосовували демо-версію програми TotalLab 120 (<http://www.totallab.com>).

Результати та обговорення

Проведено дослідження наявності пшенично-житньої транслокації у зразках української селекції пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.), які були створені в двох агроекологічних зонах України – степ та лісостеп.

Для ідентифікації пшенично-житньої транслокації використовували два типи ДНК-маркерів – RIS та SCM9. Наявність першого типу маркера в геномі пшениці вказує на присутність пшенично-житньої транслокації, а другий маркер дозволяє встановити специфічність міжхромосомного обміну – 1BL.1RS або 1AL.1RS. При за-

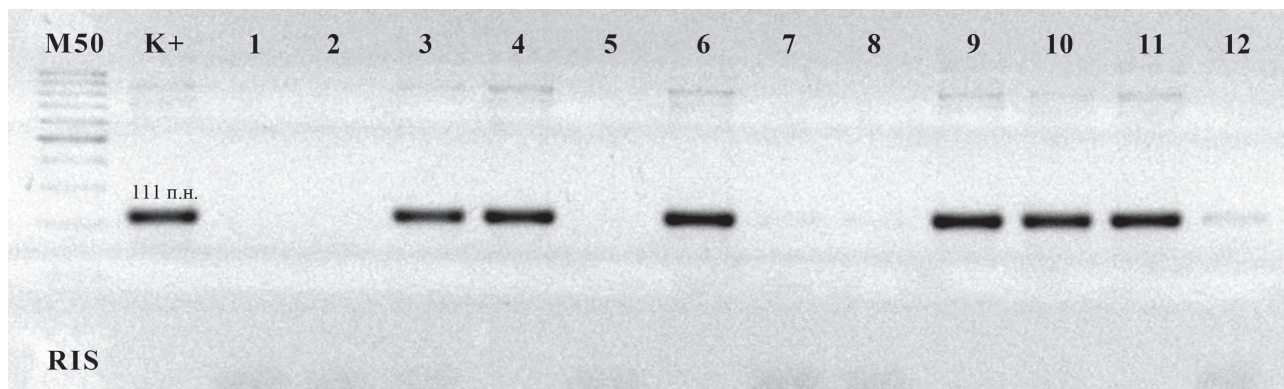


Рис. 1. Результати ПЛП з ідентифікації RIS-маркера в зразках пшениці м'якої озимої української селекції в 2 % агарозному гелі: М 50 – DNA ladders 50; K+ – ізогенна лінія сорту *Thatcher*; 1 – Харьковская 90; 2 – Харківська 105; 3 – Альянс; 4 – Дорідна; 5 – Статна; 6 – 808/10; 7 – Куяльник; 8 – Запорука; 9 – Крижинка; 10 – Фаворитка; 11 – Спасівка; 12 – Полесская 90

стосуванні пари праймерів до RIS-маркера утворюється продукт ампліфікації розміром 111 п.н. А при використанні пари праймерів до SCM9 можуть утворюватися амплікони розміром 207 або 228 п.н. залежно від того між якими хромосомами відбувся обмін – 1BL.1RS або 1AL.1RS, відповідно.

На першому етапі досліджень ми провели молекулярно-генетичний аналіз зразків пшениці м'якої на наявність в їх генотипах транслокованого короткого плеча хромосоми жита 1RS. У шістьох зразках пшениці м'якої озимої було ідентифіковано продукт ампліфікації ДНК розміром 111 п.н., що свідчить про інтрогресію 1RS хромосоми жита. (рис. 1). Пшенично-житню транс-

локацію було виявлено в таких зразках пшениці: Альянс, Дорідна, 808/10, Крижинка, Фаворитка, Спасівка.

На другому етапі досліджень ми встановлювали локалізацію міжхромосомного обміну –1AL.1RS або 1BL.1RS. Нами було ідентифіковано продукт ампліфікації розміром 228 п.н. тільки при молекулярно-генетичному аналізі загальної ДНК сорту Спасівка, що свідчить про наявність житньої транслокації 1RS в хромосомі пшениці 1AL. В інших зразках пшениці м'якої амплікони такого розміру не виявлено. В чотирьох інших зразках – Дорідна, 808/10, Крижинка, Фаворитка при аналізі їх ДНК утворювався продукт ПЛП розміром 207 п.н. (рис. 2). Утворення амплі-

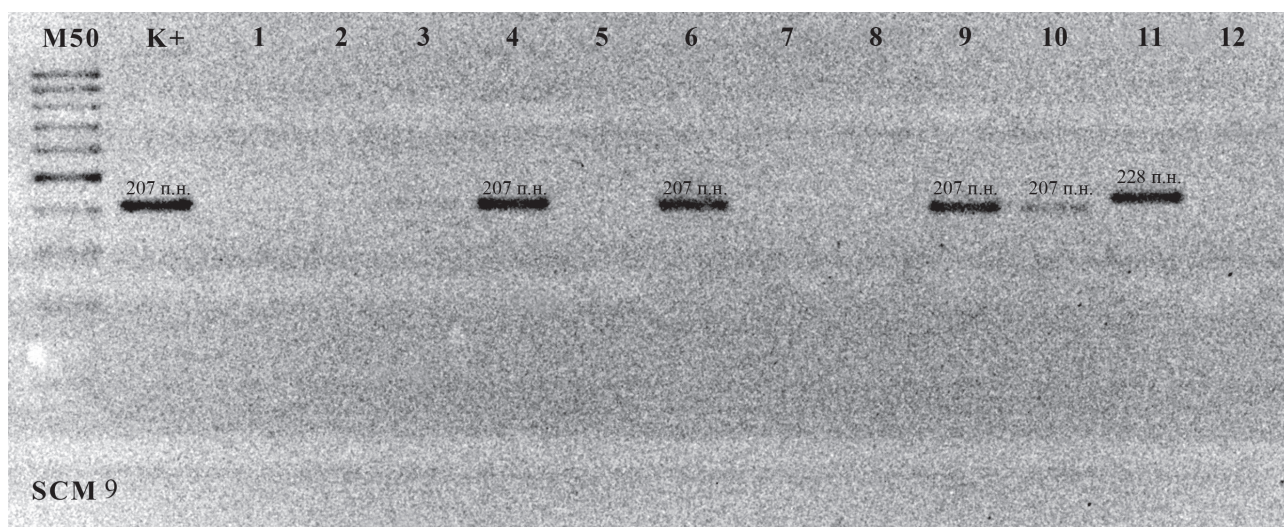


Рис. 2. Результати ПЛП з ідентифікації SCM9-маркера в зразках пшениці м'якої озимої української селекції в 2 % агарозному гелі: М 50 – DNA ladders 50; K+ – ізогенна лінія сорту *Thatcher*; 1 – Харьковская 90; 2 – Харківська 105; 3 – Альянс; 4 – Дорідна; 5 – Статна; 6 – 808/10; 7 – Куяльник; 8 – Запорука; 9 – Крижинка; 10 – Фаворитка; 11 – Спасівка; 12 – Полесская 90

кона такого розміру свідчить про інтрогресію короткого плеча хромосоми жита 1RS в 1BL хромосому пшениці. Слід відмітити, що в сорті Альянс з використанням праймерів до RIS-маркера (рис. 1 трек № 3) був ідентифікований амплікон розміром 111 п.н., але продукти ампліфікації специфічні для SCM9-маркера (228 або 207 п.н.), ми не зафіксували. Можна припустити, що переміщення частини житньої хромосоми відбулося в іншій хромосомі пшениці, що потребує подальших досліджень.

З літературних джерел відомо, що жито *Secale cereale* L. є джерелом гена *Lr26*, який обумовлює стійкість до бурої іржі (*Puccinia triticina*). За дослідженнями Власенка В.А. (2005, 2012), Шестопап О.Л. (2012), Топал М.М. (2012) виявлено пшенично-житню транслокацію 1BL.1RS, що несе гени стійкості до бурої іржі *Lr26* у таких сортах: Крижинка, Переяславка, Фаворитка та ін. [16–20].

Раніше [21] нами була проведена робота щодо ідентифікації генів стійкості до бурої іржі в зразках української селекції методом ПЛР. Специфічний маркер ІВ-267 до гена *Lr26* був виявлений в таких зразках Альянс, Дорідна, 808/10, Куяльник, Крижинка, Фаворитка, Спасівка, що підтверджує наявність пшенично-житньої транслокації.

Висновки

У результаті проведення досліджень нами було виявлено наявність пшенично-житньої транслокації в таких зразках пшениці м'якої озимої: лінії 808/10 та сортах Альянс і Дорідна (ІР); Крижинка, Фаворитка і Спасівка (МІП).

Встановлено, що житня транслокація 1RS локалізована на 1BL хромосомі в сортах Дорідна, Крижинка, Фаворитка та лінії 808/10. Наявність транслокації в 1AL хромосомі зафіксовано в сорті Спасівка київської селекції. Нами не виявлено пшенично-житню транслокацію в зразках одеської селекції.

Таким чином, використання методу ПЛР дозволило ідентифікувати специфічні ДНК-маркери, наявність яких дозволяє проводити облік пшенично-житніх транслокацій при вивченні генетичних ресурсів пшениці м'якої озимої. Підбір сортів з ідентифікованими пшенично-житніми транслокаціями для схрещування з іншими сортами дає можливість проводити контроль наявності транслокацій за маркерами на всіх етапах селекційного процесу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Friebe B., Raupp W.J., Gill B.S. Alien genes in wheat improvement. – Wheat in Global Environment // Proc. 6-th Intern. Wheat Conference, 5–9 June. – Budapest, Hungary, 2001. – P. 709–720.
2. Graybosch R.A., Peterson C.J., Hansen L.E., Worrall D., Shelton D.R., Lukaszewski A. Comparative flour quality and protein characteristics of 1BL/1RS and 1AL/1RS wheat-rye translocation lines. Journal of Cereal Science (Impact Factor: 1.94). 03/1993; 17(2):95-106.
3. Rabinovich S.V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. // Euphytica. – 1998. – 100. – P. 323–340.
4. Sebesta E.E., Wood E.F. Transfer of greenbug resistance from rye to wheat with X-rays // Agron. Abstr. – 1978. – P. 61–62.
5. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М., 1985. – 272 с.
6. Graybosch R.A., Peterson C.J., Hansen L.E., Worrall D., Shelton D.R., Lukaszewski A.J., Singh N.K., Shepherd K.W., McIntosh R.A. Linkage mapping of genes for resistance to leaf, steam and stripe rust and secalins on the chort arm of rye chromosome 1R // Theor. Appl. Genet. – 1990. – 80. – P. 609–616.
7. Собко Т.А., Хохлов А.Н. Изучение селекционной ценности пшенично-ржаной транслокации 1AL-1RS сорта озимой мягкой пшеницы Amigo // Тез. докл. Международ. конф. «Агробиотехнологии растений и животных». – К. – С. 71–72.
8. Singh N.K., Shepherd K.W., McIntosh R.A. Linkage mapping of genes for resistance to leaf, steam and stripe rust and secalins on the chort arm of rye chromosome 1R // Theor. Appl. Genet. – 1990. – 80. – P. 609–616.
9. McIntosh R.A., Hart G., Gale M. Cataloge of gene symbols for wheat // Proc. of the 8th Intern. Wheat Genet. Symp. / Eds Z.S. Li, Z.Y. Xin. – Beijing, China, 1993. – P. 1333–1500.
10. McIntosh R.A., Yamazaki Y., Devos K.M., Dubcovsky J., Rogers W.J., Appels R. Catalogue of gene symbols for wheat // Proc. of the 10th Intern. Wheat Genet. Symp. / Eds N.E. Pogna, M. Romano, G. Galterio. – Paestum, Italy, 2003. – P. 1–6.
11. Meltz G., Schlegel R., Thiele V. Genetic linkage map of rye // Theor. Appl. Genet. – 1992. – 83. – P. 33–45.
12. Козуб Н.О., Созинов І.О., Колочий В.Т., Власенко В.А., Собко Т.О., Созинов О.О. Ідентифікація 1AL/1RS транслокації у сортів м'якої пшениці української селекції // Цитология и генетика. – 2005. – 39, № 4. – С. 20–24.
13. Hoffmann B. Alteration of drought tolerance of winter wheat caused by translocation of rye chromosome segment 1R // Cereal Res. Commun. – 2008. – 36. – P. 269–278.
14. Kim W., Johnson J.W., Baenziger P.S., Lukaszewski A.J., Gaines C.S. Agronomic effect of wheat-rye translocation carrying rye chromatin (1R) from different sources // Crop Sci. – 2004. – 44. – P. 1254–1258.
15. Singh N.K., Sheptherd K.W., McIntosh R.A. Linkage mapping genes of resistance to leaf, stem, and stripe rust and omega-secalins on the short arm of rye chromosome 1R // Theor Appl Genet. – 1990. – 80. – P. 609–616.

16. Власенко В.А., Колочий В.Т., Чебаков М.П., Коломієць Л.А., Козуб Н.О. Використання генетичних компонентів жита в селекції миронівських сортів озимої м'якої пшениці // Зб. наук. пр. Уманського держ. аграр.ун-ту / Редкол.: П.Г. Копитко (відп. ред.) та ін. – Умань, 2005. – Вип. 60. – С. 54–63.
17. Власенко В.А. Стійкість проти грибних хвороб сучасних сортів пшениці м'якої озимої в умовах північно-східної частини Лісостепу України // Тези Міжнародної наукової конференції «Селекція та генетика сільськогосподарських рослин: традиції та перспективи (до 100-річчя СГІ – НЦНС)», 17–19 жовтня 2012 р. – Одеса, 2012. – С. 229–230.
18. Шестопал О.Л., Замбріборщ І.С., Топал М.М. та ін. Вивчення гаплопродукційної здатності м'якої пшениці з пшенично-житніми транслокаціями // Тези Міжнародної наукової конференції «Селекція та генетика сільськогосподарських рослин: традиції та перспективи (до 100-річчя СГІ – НЦНС)», 17–19 жовтня 2012 р. – Одеса, 2012. – С. 388–389.
19. Топал М.М. Ідентифікація і характеристика за агрономічними ознаками сортів і ліній м'якої озимої пшениці з пшенично-житніми транслокаціями // Тези Міжнародної наукової конференції «Селекція та генетика сільськогосподарських рослин: традиції та перспективи (до 100-річчя СГІ – НЦНС)», 17–19 жовтня 2012 р. – Одеса, 2012. – С. 199–200.
20. Ковалишена Г.М. Генетичне різноманіття сортів пшениці озимої за стійкістю проти бурої іржі // Захист і карантин рослин. – К., 2013. – Вип. 59. – С. 137–146.
21. Зайцева Г.П., Акинина Г.Е., Твердохлеб Е.В., Дугарь Ю.Н., Попов В.Н. Определение Lg генів в сортах пшеницы мягкой озимой украинской селекции // Факторы экспериментальной эволюции организмов. – К.: Логос. – 14. – С. 150–152.

ZAITSEVA H.P., AKININA G.YE., TVERDOKHLEB E.V., POPOV V.N.

*The Plant Production Institute nd. a. V.Ya. Yuriev of NAAS,
Ukraine, 61060, Kharkov, Moskovskiy prospekt, 142, e-mail: yuriev1908@gmail.com*

THE DISTRIBUTION OF WHEAT-RYE TRANSLOCATION IN SOFT WINTER WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) SAMPLES OF UKRAINIAN BREEDING

Aims. The aim of our research was identification of wheat-rye translocation in soft winter wheat samples of Ukrainian breeding. **Methods.** DNA was isolated from a mixture of five seeds. Presence of wheat-rye translocation was studied by polymerase chain reaction (PCR). **Results.** To identify wheat-rye translocations used two types of DNA markers – RIS and SCM 9. The presence of RIS-marker indicates the presence of rye short chromosome arm 1RS in wheat genome, SCM9-marker indicates localization of rye translocation in wheat genome – 1BL or 1AL chromosome. **Conclusions.** We revealed 1RS rye translocation in following samples of soft winter wheat: line 808/10 and varieties Al'ians, Doridna (the Plant Production Institute nd. a. V.Ya. Yuriev); Kryzhynka, Favorytka and Spasivka (the Mironivskiy Institute of wheat nd. a. V.M. Remeslo). The 1RS translocation in 1BL wheat chromosome was identified in varieties Doridna, Kryzhynka, Favorytka and line 808/10. The presence of rye translocations in 1AL wheat chromosome was revealed in variety Spasivka. We did not identify rye translocation in wheat samples of Odessa breeding.

Keywords: wheat-rye translocation, DNA markers, *T. aestivum* L.