

УДК 633.11:631.528.1

В.І. ДУБОВИЙ¹, С.О. ХОМЕНКО¹, Т.В. ЧУГУНКОВА²

¹Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла УААН

²Інститут фізіології рослин та генетики НАН України, Київ

МУТАЦІЙНА МІНЛИВІСТЬ ТА УСПАДКУВАННЯ МАРКЕРНИХ ОЗНАК У ГІБРИДНО-МУТАНТНИХ ПОПУЛЯЦІЙ F_2M_2 ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ



Вступ. В мутаційній селекції використовуються різні методи для створення нових сортів [1–4], у тому числі поєднання комбінаційної та мутаційної мінливості. Одним із перспективних напрямків селекції є обробка мутагенними чинниками гібридів першого і наступних поколінь [4–7], яка дозволяє розширити можливості рекомбінації ознак батьків у потомстві гібридів шляхом розриву тісного зчеплення між деякими ознаками в результаті хромосомних перебудов, викликаних мутагенами. Поєднання комбінаційної та мутаційної мінливості можна розглядати як спосіб підвищення диференціації селекційного матеріалу за основними адаптивними ознаками та добору в стресових умовах форм з підвищеною стійкістю до абиотичних та біотичних факторів, які складаються протягом вегетації рослин [7]. За даними ряду авторів [1, 2, 4], завдяки цьому методу підвищується частота рекомбінаційної та мутаційної мінливості та розширюється її спектр.

За даними Моргуна [1], загальна кількість районованих сортів, отриманих методом експериментального мутагенезу, у світі досягає понад 1920, з них пшениці м'якої — 154 сорти. В Україні районовано 29 сортів озимої м'якої та твердої пшениці, створених за участю спонтанних та індукованих мутацій, що становить 64,4 % загальної кількості районованих сортів, в їх числі сорти, створені за допомогою лише індукованих мутацій та з використанням поєднання мутагенезу і гібридизації, складають 20 %.

Оскільки методичні аспекти роботи з гібридно-мутантними популяціями опрацьовані поки що недостатньо [8], вивчення закономірностей поєднання мутаційної мінливості з комбінативною є актуальним.

Мета наших досліджень — вивчити вплив обробки гібридного насіння мутагенами на генетичну мінливість у F_2M_2 .

Успадкування господарсько цінних ознак (продуктивність, стійкість до хвороб, тривалість вегетаційного періоду) є досить складним, тому генетичну мінливість досліджували на маркерних ознаках: безостість (остистість), колір колосся (червоний, білий) та зерна (червоний, білий), які легко піддаються обліку.

Наши дослідження є складовою НТП «Зернові та олійні культури» згідно з тематичним планом лабораторії селекції інтенсивних сортів озимої пшениці Миронівського інституту.

Досліджено вплив обробки мутагенами гібридного насіння на генетичну мінливість у гібридних популяціях другого покоління озимої пшениці. Показано, що обробка мутагенами в помірних дозах призводить до відхилення розщеплення за маркерними ознаками порівняно з контролем у більш збільшення чи зменшення рецесивів. Виявлено, що у комбінаціях схрещувань, де однією з батьківських форм була червоноколоса, обробка гамма-променями в дозі 100 Гр призводить до значно більшого відхилення у порівнянні з контролем.

© В.І. ДУБОВИЙ, С.О. ХОМЕНКО, Т.В. ЧУГУНКОВА, 2004

Матеріали та методи. У дослідженнях використали гібридні комбінації від схрещування сортів і константних ліній, контрастних за однією чи кількома ознаками: безості — Крижинка, Миронівська 808, Мільтурум 31217, остисті — Експромт, Альбатрос одеський, Ферругінеум 31143, Донська напівкарликова, Грекум 30513. З них червоне забарвлення колосся мають Мільтурум 31217 та Ферругінеум 31143, решта — білоколосі, біле забарвлення зерна — Грекум 30513, у решти зерно червоного кольору.

Отримане від схрещування гібридне насіння перед сівбою обробили (експозиція 18 год) такими мутагенами: N-нітрозоетилсечевиною дозою 0,01 % (HEC), N-нітрозометилсечевиною (HMC) дозою 0,005 % і гамма-променями (γ -п) дозою 100 Гр. Обробку проводили в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України. Контроль — гібридне насіння, замочене у воді. Оброблене насіння разом із стандартами та батьківськими формами вивчали у польових

умовах 2000/2001 рр. Сівбу F_1M_1 проводили ручними саджалками з площею живлення для кожної рослини 10×15 см.

Гібридно-мутантні популяції F_2M_2 сіяли під урожай 2002 р. насінням з головного колоса по попереднику зайнятий пар сівалкою СКС-6-10 рядками завдовжки 1,5 м з міжряддям 30 см. Кількість рядків одного варіанту різна (10–75) і залежить від кількості відібраних колосків у F_1M_1 .

Фенологічні спостереження здійснювали згідно із загальноприйнятою методикою [9]. Підраховували рослини з безостим (остистим) та червоним (білим) колоссям на всіх варіантах обробки. Під час обмолоту підраховано кількість рослин з червоним і білим зерном.

Для аналізу успадкування маркерних ознак використовували критерій χ^2 [10].

Результати досліджень та їх обговорення. Рослини F_1M_1 мали однорідний зовнішній вигляд, хоча й відрізнялися за датою колосіння від

Таблиця 1

**Успадкування ознаки безостість (остистість) у F_2M_2 озимої пшениці
при схрещуванні контрастних за ознакою сортів та ліній**

Комбінація схрещування	Варіант дії мутагена	Кількість фенотипів		$\chi^2 3:1$
		домінантних (безостих)	рецесивних (остистих)	
Крижинка × Експромт	Контроль	594	199	0,004
	HEC 0,01 %	579	252	11,152
	HMC 0,005 %	415	183	8,837
	γ -п 100 Гр	565	239	9,579
Альбатрос одеський × Мільтурум 31217	Контроль	307	111	0,246
	HEC 0,01 %	227	118	15,584
	HMC 0,005 %	326	184	33,383
	γ -п 100 Гр	309	223	62,537
Крижинка × Ферругінеум 31143	Контроль	430	169	3,299
	HEC 0,01 %	259	138	16,679
	HMC 0,005 %	513	246	19,030
	γ -п 100 Гр	588	344	56,771
Миронівська 808 × Донська напівкарликова	Контроль	258	96	0,848
	HEC 0,01 %	320	144	9,012
	HMC 0,005 %	261	105	2,656
	γ -п 100 Гр	192	97	11,304
Мільтурум 31217 × Грекум 30513	Контроль	375	136	0,710
	HEC 0,01 %	329	168	20,540
	HMC 0,005 %	273	123	7,758
	γ -п 100 Гр	334	192	37,113

Примітка. $\chi^2 = 3,84$ при $P_{0,05}$.

контролю [11]. Домінували безостість, червоний колір колосся та зерна. У комбінаціях з контрастними за ознакою безостість (остистість) батьківськими формами гібриди мали остико-подібні закінчення колоскової луски завдовжки 1,0–1,5 см.

У F_2M_2 підрахунок рослин за ознакою безостість (остистість) показав, що обробка мутагенами змінює характер успадкування. В контрольних варіантах відзначено розщеплення 3:1, що характерно для моногіbridного успадкування, тоді як у варіантах з мутагенною обробкою це співвідношення змінювалось у бік збільшення кількості остистих форм (табл. 1). Оцінка за критерієм χ^2 показала достовірні статистично значущі відхилення від очікуваних розщеплень. При цьому виявилося, що в комбінаціях, де однією з батьківських форм є червоноколо-

са, відхилення істотно збільшується. Приміром, у комбінації Крижинка × Експромт χ^2 становить від 8,837 до 11,152, тоді як у комбінації Крижинка × Ферругінеум 31143 — від 16,679 до 56,771, а в комбінації Альбатрос одеський × Мільтурум 31217 — від 15,584 до 62,537. Слід зазначити, що існують відомості про вищу загальну мутабільність червоноколосих форм пшениці при обробці гамма-променями [12].

Подібні результати отримані і під час вивчення успадкування кольору колосся. В контрольних варіантах співвідношення рослин з червоним і білим забарвленням колосся дорівнює 15:1, що характерно для дигіbridного успадкування [13]. На варіантах з мутагенною обробкою спостерігалося відхилення від очікуваного співвідношення у бік збільшення як до-

Успадкування кольору колосся та зерна у F_2M_2 озимої пшениці при скрещуванні контрастних за ознакою сортів та ліній

Комбінація скрещування	Варіант дії мутагена	Кількість фенотипів		χ^2 3 : 1
		домінантних (безостих)	рецесивних (остистих)	
За кольором колосся				
Альбатрос одеський × Мільтурум 31217	Контроль	387	31	0,828
	НЕС 0,01 %	300	45	14,038
	HMC 0,005 %	466	44	3,657
	γ -п 100 Гр	471	61	14,259
Крижинка × Ферругінеум 31143	Контроль	566	33	0,562
	НЕС 0,01 %	389	8	36,0591
	HMC 0,005 %	733	26	8,303
	γ -п 100 Гр	896	36	14,304
Грекум 30513 × Мільтурум 31217	Контроль	650	37	0,8761
	НЕС 0,01 %	531	11	6,468
	HMC 0,005 %	656	19	13,595
	γ -п 100 Гр	438	16	5,757
За кольором зерна				
Грекум 30513 × Альбатрос одеський	Контроль	531	32	0,308
	НЕС 0,01 %	606	23	7,220
	HMC 0,005 %	527	54	9,190
	γ -п 100 Гр	432	46	9,284
Мільтурум 31217 × Грекум 30513	Контроль	478	33	0,038
	НЕС 0,01 %	478	19	4,997
	HMC 0,005 %	359	37	6,467
	γ -п 100 Гр	481	45	4,770

Примітка. $\chi^2 = 3,84$ при $P_{0,05}$.

мінантних, так і рецесивних форм (табл. 2). Так, в комбінації Альбатрос одеський × Мільтурум 31217 у варіантах з обробкою НЕС 0,01% та γ -п 100 Гр збільшується кількість рослин з білим колоссям, а в комбінаціях Крижинка × Ферругінеум 31143 та Грекум 30513 × Мільтурум 31217 вона зменшується порівняно з контролем. При цьому у варіанті з обробкою НМС 0,005 % у комбінації Альбатрос одеський × Мільтурум 31217 розщеплення наближується до теоретичного.

Мутагени спричинили відхилення також в успадкуванні кольору зерна (табл. 2) у бік збільшення домінантів (при обробці НЕС 0,01 %) та рецесивів (при обробці НМС 0,005 % і γ -п 100 Гр).

Крім змін успадкування спостерігали появу нових ознак, відсутніх у контролі (табл. 3). В комбінаціях Миронівська 808 × Донська напівкарликова (варіант обробки НЕС 0,01 %), Альбатрос одеський × Мільтурум 31217 (НЕС 0,01 %) та Грекум 30513 × Мільтурум 31217 (γ -п 100 Гр) відзначено депресію росту й розвитку у деяких рослин. Це виражається у невеликій висоті рослин порівняно з контролем, настанні фази повного колосіння на 7–10 днів пізніше, ніж у решти рослин цього варіанту, а також у невеликих (завдовжки 4–6 см) колосках з шупливим, слабо налитим зерном.

В комбінації Крижинка × Експромт (γ -п 100 Гр) виявлено рослину з чорними остиюками, білим колоссям та червоним зерном, що відповідає різновидності ніграрістатум. В комбінації Миронівська 808 × Донська напівкарликова відбрали рослину з антоціановим забарвленням стебла, листя та колосся. Карликові рослини (висотою до 60 см) виявлено практично у всіх комбінаціях, але найбільше в комбінації Альбатрос одеський × Мільтурум 31217 (варіант обробки НЕС 0,01 %, НМС 0,005 % та γ -п 100 Гр).

Майже у всіх комбінаціях схрещування спостерігали мутації з скверхедним та напівскверхедним колоссям.

Були відіbrane рослини, стікі до борошнистої роси (8–9 балів), які виявлені в комбінаціях схрещування Крижинка × Експромт. Слід зазначити, що в цій комбінації у всіх варіантах обробки мутагенами нами відібрано від 7 до 10 стікіх рослин. Це може бути пов'я-

зано з відносно високою стійкістю сорту Експромт (до 7 балів).

У комбінаціях схрещування Крижинка × Експромт та Альбатрос одеський × Мільтурум 31217 виділено найбільшу кількість рослин з підвищеною кущистістю, що поєднувалась з карликовістю цих форм. У більшості комбінацій схрещувань виділено рослини з раннім колосінням (на рівні Донської напівкарликової). Кількість таких рослин не залежала від варіantu обробки. Так, в комбінації Грекум 30513 × Альбатрос одеський найбільшу кількість рослин (4 шт.) виділено при обробці НЕС 0,01 % та 5 рослин при обробці γ -п 100 Гр. В комбінації схрещування Крижинка × Ферругінеум 31143 ранньостиглих рослин не виявлено.

Наши дослідження дозволили виявити відхилення від теоретичного розщеплення в успадкуванні ознак безостості (остистості) в бік збільшення рецесивів. Крім того, в комбінаціях, де одним з батьківських компонентів була червоноколоса форма, відхилень виявлено більше. В усіх комбінаціях схрещування при обробці різними мутагенами в помірних дозах виявлені мутантні форми, які несуть господарсько корисні ознаки: карликові форми, рослини з підвищеною кущистістю, довгим крупним колосом, раннім колосінням, стікі до борошнистої роси. Це свідчить про перспективність поєднання комбінаційної та мутаційної мілівості, завдяки чому збільшується генетичне різноманіття в гібридно-мутантних популяціях.

Таким чином, поєднання рекомбіногенезу з мутагенезом призводить до відхилення від теоретичного розщеплення в бік появи більшої кількості рослин з домінантною чи рецесивною ознакою залежно від генотипу гібрида і мутагенного чинника. Проведений аналіз свідчить, що відмінності по комбінаціях схрещувань в залежності від обробки мутагенами не мають чіткої закономірності. Спектр одержаних мутацій більш залежав від комбінації схрещування, ніж від використаного мутагенного чинника. Разом з тим обробка гамма-променями в дозі 100 Гр призводить до значно більшого відхилення від контролю у варіантах, де одним з батьківських компонентів була червоноколоса форма озимої пшениці. Спостерігали появу рослин з новими ознаками, відсутніми

Спектр морфо-біологічних мутацій у F_2M_2 , індукованих дією мутагенів на гібридне насіння озимої пшениці

Таблиця 3

Гібридні комбінації	Варіант дії мутагена	Типи мутацій (кількість рослин, шт.)																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Крижинка × Експромт	Контроль	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	HEC	2	1	3	4	2	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	7	0
	HMC	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	10	0
	γ -П	2	0	0	1	0	2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	7	1
Миронівська 808 × Донська напівкарликова	Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	HEC	2	1	0	0	0	2	1	0	1	0	0	4	3	0	0	1	0	0	0	0	1	0
	HMC	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	2	3	2	0	0	0	0	0	1	3	0
	γ -П	0	0	1	0	1	2	2	0	2	1	0	1	2	1	1	0	0	0	0	1	0	0
Альбатрос одеський × Мільтурум 31217	Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	HEC	0	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	2	0	0	0	0	0	0	3	0
	HMC	0	1	6	5	1	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	1	3	0
	γ -П	0	0	3	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	3	0	0
Грекум 30513 × Альбатрос одеський	Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	HEC	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	
	HMC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	
	γ -П	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	5	0
Грекум 30513 × Мільтурум 31217	Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	HEC	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	HMC	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	3	0
	γ -П	0	3	2	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Крижинка × Ферругінеум 31143	Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	HEC	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	HMC	0	2	1	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	8	0	0	0	
	γ -П	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	1	2	0	0	0	5	0	0	

Примітка. 1 — високорослі; 2 — низькорослі; 3 — карлики; 4 — рослини з підвищеною кущистю; 5 — довгий колос; 6 — дрібний колос; 7 — крупний колос; 8 — щільний колос; 9 — рихлий колос; 10 — спельтоїдний; 11 — стерильний колос; 12 — колос з додатковими колосками збоку; 13 — скверхеди; 14 — напівскверхеди; 15 — листок біля основи колосу; 16 — колос з редуктованими колосками з одного боку; 17 — широке листя; 18 — антоціанове забарвлення листя; 19 — пізнє колосіння (пізніше на 14–20 днів); 20 — раннє колосіння; 21 — стійкі до борошнистої роси (8–9 балів); 22 — рослини з чорними остюками.

німи в контролі. Завдяки цьому розширяється спектр генетичної мінливості в гібридно-мутантних популяціях і збільшується можливість добору цінних форм для подальшої селекційної роботи.

SUMMARY. Influence of hybrid seed treatment with mutagens on genetic variability in hybrid populations of the second generation of winter wheat has been investigated. Treatment with mutagens in moderate doses results in deviation of segregation of marker traits as compared to control towards either increase or decrease of the ratio of recessive alleles. It was shown that in crossing combinations with red-ear form as one of the parental components, treatment with gamma rays at the dose of 100 Gy leads to significantly larger deviations of disintegration comparing to control.

РЕЗЮМЕ. Исследовано влияние обработки мутагенами гибридных семян на генетическую изменчивость в гибридных популяциях второго поколения озимой пшеницы. Показано, что обработка мутагенами в умеренных дозах ведет к отклонению расщепления по маркерным признакам по сравнению с контролем в сторону увеличения или уменьшения рецессивов. Выявлено, что в комбинациях скрещивания, где одним из родительских компонентов была красноколосая форма, обработка гамма-лучами в дозе 100 Гр привела к значительно большим отклонениям по сравнению с контролем.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Моргун В.В. Спонтанна та індукована мутаційна мінливість і її використання в селекції рослин // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. — К.: Логос, 2001. — 2. — С. 144–174.
2. Моргун В.В., Логвиненко В.Ф. Мутационная селекция пшеницы. — К.: Наук. думка, 1995. — 626 с.
3. Гирко В.С., Волощук С.И. Генетическая активность химических и физических мутагенных факторов в культуре незрелых зародышей пшеницы // Цитология и генетика. — 1999. — 33, № 4. — С. 33–42.
4. Поляков А.В., Тарасенков И.И. Обработка семян F₁ гетерозисных гибридов овощного гороха химическими мутагенами как метод получения высокопродуктивных линий, устойчивых к неблагоприятным климатическим условиям // Проблемы и пути повышения устойчивости растений к болезням и экстремальным условиям среди в связи с задачами селекции : Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. — Л., 1981. — Ч. 2. — С. 138–139.
5. Васильківський С.П., Власенко В.А. Розширення генетичного різноманіття вихідного матеріалу в селекції зернових культур // Наук.-техн. бюл. Миронів. ін-ту пшениці. — 2002. — Вип. 2. — С. 12–17.
6. IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture international atomic energy agency // Mutat. Breed. Newslett. Joint FAO. — Vienna, 1997. — № 43. — Р. 39–56.
7. Власенко В.А., Шелепов В.В., Животков Л.О. та ін. Напрямки та результати селекційної роботи по озимій пшениці при використанні гібридно-мутантної мінливості // Вчимося господарювати : Матеріали наук.-практ. семінару молодих вчених та спеціалістів (22–23 лист. 1999 р., Київ-Чабани). — Київ, 1999. — Ч. 2. — С. 44–45.
8. Власенко В.А., Шелепов В.В., Животков Л.А., Маринка С.Н. Особенности селекционного отбора в гибридно-мутантных популяциях озимой пшеницы // Физиология и биохимия культур. растений. — 1999. — 31, № 1. — С. 36–41.
9. Методика державного сортовипробування сільськогосподарських культур / Під ред. В.В. Волкодава. — Київ, 2000. — Вип. 1. — 100 с.
10. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Агропромиздат, 1985. — 349 с.
11. Маринка С.М., Хоменко С.О., Шелепов В.В., Власенко В.А. Польова схожість та довжина вегетаційного періоду F₁M₁ озимої пшениці // Наук.-техн. бюл. Миронів. ін-ту пшениці. — 2002. — Вип. 2. — С. 54–63.
12. Володин В.Г., Мушинская Л.Г. Изучение частоты возникновения радиационных мутантов у пшеницы из коллекции ВИР // Экспериментальный мутагенез. — М.: Наука, 1967. — 317 с.
13. Филипченко Ю.А. Генетика мягких пшениц. — М.: Наука, 1979. — 309 с.

Надійшла 13.07.04