

ЗБАГАЧЕННЯ ГЕНОФОНДУ ТРИТИКАЛЕ ОЗИМОГО ЗА ВІДДАЛЕНОЇ ГІБРИДИЗАЦІЇ

Діордієва І. П., Рябовол Л. О.

Вступ. Тритикале — штучно створений біологічний вид, який не має природнього центру походження і тривалого процесу еволюції. Тому необхідною умовою для успішної селекційної роботи є постійне отримання нового вихідного матеріалу із залученням широкого різноманіття наявних форм і віддалених видів, зокрема, пшениці та жита з найкращими характеристиками за господарсько-цінними ознаками і властивостями [1–3].

Нині зусиллями селекціонерів і генетиків створено значне різноманіття форм тритикале. У генетичних банках світу зареєстровано біля 16 тис. зразків. Генофонд культури у Національному центрі генетичних ресурсів рослин України нараховує понад чотири тисячі зразків з 42 країн світу, з яких октаплоїдні форми складають 6 %, тетраплоїдні – біля 4 % і переважну більшість (до 90 %) – гексаплоїдні форми тритикале, [4, 5].

Синтез нових матеріалів можливий за використання різних методів [6–8], зокрема:

1) синтез первинних октаплоїдних і гексаплоїдних тритикале за гібриди пшениці та жита і наступним подвоєнням кількості хромосом за дії поліплоїдизуючих речовин. Це є основним методом введення зародкової плазми пшениці та жита в генофонд тритикале;

2) синтез вторинних гексаплоїдних тритикале, що базується на запиленні гібридів F_1 різного походження пилом гексаплоїдних тритикале. Цей метод технічно простий і дає змогу в широких масштабах створювати нові форми культури на основі високопродуктивних місцевих, селекційних і зарубіжних зразків пшениці, жита і тритикале [9, 10].

Основою обох методів є отримання віддалених гібридів між пшеницею і житом. Оскільки генетична різноманітність батьківських форм величезна, кількість теоретично можливих комбінацій може бути значною [6].

Недостатність вивчення проблеми гібридизації пшениці та жита і різноманітність думок вчених з цього приводу підтверджує актуальність, теоретичне і прикладне значення наукового напрямку.

Метою досліджень було розширення генетичного різноманіття зразків тритикале озимого за внутрішньовидової і віддаленої гібридизації та отримання нових цінних форм для їх залучення до селекційного процесу створення високопродуктивних сортів культури.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проведено впродовж 2013–2020 рр. на ділянках кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології Уманського національного університету садівництва МОН України. Вихідним матеріалом для гібридизації використовували п'ять видів гексаплоїдних пшениць озимого типу розвитку, зокрема, *Triticum spelta* L. (сорт Зоря України, Європа), *Triticum sphaerococcum* Perciv. (сорт Шарада), *Triticum aestivum* L. (сорт Подільська, Артеміда, Фрея, Артаплот), *Triticum petropavlovskyi* Udacz., *Triticum compactum* Host.; зразки жита озимого 193, 169 і 330 селекції Уманського НУС та лінії 308, 309 створені на Носівській селекційно-дослідній станції; зразки гексаплоїдного тритикале власної селекції та сорти Розівська 6, Ладне, Хлібодар Харківський, Бета, Алкід, Сувенір, Раритет; зразки октаплоїдного тритикале UA0602463 та UA0601654, що було надано Національним центром генетичних ресурсів рослин України; дикі форми елімуса піщаного (*Elimus arenarius* L.).

Гібридизацію проводили за кастрації (видалення пиляків) материнських квіток і примусового запилення їх пилком батьківської форми. Після дозрівання насіння материнські суцвіття зрізали, підраховували кількість кастрованих квіток і сформованого насіння та визначали відсоток зав'язування і рівень прогамної несумісності. Гібридні зернівки висівали безпосередньо в ґрунт та визначали польову схожість насіння.

Гібридне потомство аналізували за проявом морфологічних та господарсько-цінних ознак, зокрема, висота рослин, стійкість до вилягання, довжина колосу, маса зерна з головного колосу та 1000 зерен, вміст у зерні білка і клейковини та показники її якості, врожайність тощо. У дослідженнях використовували систематичний метод розміщення ділянок. Номери розташовували блоками з густотою рослин 400 тис. шт./га за чотириразової повторності. Всі обліки, спостереження та контрольне сортовипробування створених сортів проводили відповідно до «Методики Державної науково-технічної експертизи сортів рослин» [11]. Державну науково-технічну експертизу сортів Наварра і Стратег проводили впродовж 2015–2018 рр. у Державних центрах експертизи сортів рослин 17 областей України. Достовірність досліджень, ступінь варіювання ознак та суттєвість відмінностей між показниками продуктивності в експериментальних дослідженнях оцінювалися за методикою Е. Р. Ермантраута та ін. [12] і використання прикладної програми MS Excel.

Гібридизація гексаплоїдних видів пшениці з диплоїдним житом. Доведено, що за міжродової гібридизації пшениці з житом спостерігається несхрещуваність внаслідок прояву прогамної несумісності і загибель гібридних зародків на різних етапах їх формування [13, 14]. Це ускладнює роботу з отримання первинних форм тритикале.

Успіх схрещування суттєво залежить від генотипу вихідних зразків пшениці та жита. Вченими [15, 16] виявлено наявність комплементарної взаємодії генів Eml (Embryo lethality) жита та Eml-1A пшениці м'якої, що блокують розвиток гібридних зародків. У результаті може формуватися насіння, що не містить диференційованого зародка. Крім генетичного чинника, на успіх отримання гібридних зернівок впливають погодні умови під час запилення, техніка кастрації і гібридизації, час запилення, кількість і якість пилку тощо [6, 17].

Відомо, що у пшениці м'якої є гени, що пригнічують міжродову сумісність, зокрема, ген Kr₁, що локалізований в хромосомі 5B, і ген Kr₂,

розташований в хромосомі 5A [18, 19]. З усього світового різноманіття сортів пшениці м'якої тільки 7 % добре схрещуються з житом (генотип $kr_1kr_1kr_2kr_2$, має зав'язування гібридних зерен на рівні 50 %), 14 % – мають задовільний рівень сумісності (генотип $Kr_1Kr_1kr_2kr_2$, забезпечує зав'язування насіння на рівні 10–30 %, а генотип $kr_1kr_1Kr_2Kr_2$ – 30–50 %), і 80 % сортів мають низьку сумісність за схрещування (генотип $Kr_1Kr_1Kr_2Kr_2$ – зав'язування до 10 %) [6, 20]. Крім цього, вважається, що є й інші гени, локалізовані в геномах D і R, які відповідають за міжродову гібридизацію [21]. Не усувається і значення цитоплазми [22]. Даних про генетичний контроль сумісності видів *Triticum spelta* L., *Triticum compactum* Host. та *Triticum petropavlovskyi* Udacz. з житом в науковій літературі не знайдено. Оскільки ці види мають ідентичну пшениці м'якій геномну формулу та хромосомний склад окремих субгеномів, то можна припускати наявність у їх геномі Kr-генів різного алельного стану.

Успіх схрещування за віддаленої гібридизації залежить від рівня прогамної і постгамної несумісності вихідних материнської і батьківської форм. Його можна визначити різними способами, зокрема:

1. За відношенням кількості зав'язаних гібридних насінин до кількості запилених квіток (виражене у відсотках). Це дає уявлення про рівень прогамної несумісності вихідних форм, що істотно варіює і залежить не тільки від генотипів, але й від техніки схрещування, часу запилення, якості пилку, погодний умов тощо [6].

2. За схожістю гібридних зерен (відношення кількості схожих насінин до загальної кількості сформованих насінин, виражене у відсотках), що характеризує рівень постгамної несумісності вихідних форм. Цей показник варіює менше і залежить від генотипів батьків [6].

3. За відношенням кількості схожих гібридних зерен до загальної кількості запилених квіток, вираженого у відсотках [6].

4. За відношенням кількості гібридних рослин, що вижили на момент збирання, до кількості запилених житом квіток пшениці, вираженого у відсотках [23].

У процесі досліджень проведено аналіз рівня прогамної та постгамної несумісності різних видів гексаплоїдної пшениці за гібридизації з диплоїдним житом. Для аналізу успішності схрещування використовували два перших способи. В 2015 р. запилювачами слугували зразки жита озимого 193 та 169. Сорт пшениці спельта Зоря України мав низький рівень зав'язування насіння за міжродової гібридизації, що вказує на наявність у геномі домінантних алелей генів несумісності (табл. 1).

Таблиця 1

Рівень зав'язування насіння за гібридизації різних видів гексаплоїдної пшениці з житом, 2015 р.

Материнська форма (пшениця)			Батьківська форма (жито)			
			Зразок 193		Зразок 169	
			Рівень зав'язування насіння, %	Вживання гібридних рослин, %	Рівень зав'язування насіння, %	Вживання гібридних рослин, %
Вид	Сорт	Ймовірна комбінація генів пшениці				
<i>Triticum spelta</i> L.	Зоря України	Kr ₁ Kr ₁ Kr ₂ Kr ₂	8,8	0,0	9,5	0,0
	Європа	Kr ₁ Kr ₁ kr ₂ kr ₂	15,2	1,9	18,2	0,0
<i>Triticum sphaerococcum</i> Perciv.	Шарада	Kr ₁ Kr ₁ kr ₂ kr ₂	18,7	0,0	21,2	0,0
<i>Triticum aestivum</i> L.	Фрея	kr ₁ kr ₁ Kr ₂ Kr ₂	31,1	10,7	35,2	9,5
	Артаплот	Kr ₁ Kr ₁ kr ₂ kr ₂	20,8	3,7	21,1	0

Сорти спельти Європа, пшениці м'якої Артаплот та шарозерної пшениці Шарада мали вищий рівень сумісності з житом (зав'язування у межах 15,2–21,2 %), що дає змогу припустити наявність у геномі генів kr₂ у рецисивному гомозиготному стані. Найвищий рівень зав'язування насіння фіксували у сорту пшениці м'якої озимої Фрея (понад 30 %), що вказує на його ймовірну комбінацію генів kr₁kr₁Kr₂Kr₂.

Зразок жита озимого 169 легше схрещувався з гексаплоїдними пшеницями, порівняно із зразком 193. Проте вищу комбінаційну здатність зафіксовано при запиленні зразком 193.

В 2016 р. схрещування різних видів гексаплоїдної пшениці проводили з лініями жита озимого 308 і 309, що характеризуються низькорослістю (висота рослин 72–74 см), довгим колосом (10–12 см), а лінія 309 – еректоїдним розміщенням листової пластинки.

Вид *Triticum petropavlovskyi* Udacz. показав низький рівень зав'язування насіння (4,5–5,1 %) за схрещування з диплоїдним житом (табл. 2).

Таблиця 2

Рівень зав'язування насіння за гібридизації різних видів гексаплоїдної пшениці з житом, 2016 р.

Материнська форма (пшениця)			Батьківська форма (жито)			
			Лінія 308		Лінія 309	
			Рівень зав'язування насіння, %	Вживання гібридних рослин, %	Рівень зав'язування насіння, %	Вживання гібридних рослин, %
Вид	Сорт	Ймовірна комбінація генів				
<i>Triticum spelta</i> L.	Зоря України	Kr ₁ Kr ₁ Kr ₂ Kr ₂	6,5	0,0	4,2	0,0
	Європа	Kr ₁ Kr ₁ kr ₂ kr ₂	12,8	4,7	13,8	4,9
<i>Triticum sphaerococcum</i> Perciv.	Шарада	Kr ₁ Kr ₁ kr ₂ kr ₂	15,6	0,0	19,2	0,0
<i>Triticum aestivum</i> L.	Артеміда	kr ₁ kr ₁ Kr ₂ Kr ₂	32,5	6,1	32,7	5,8
	Подільська	Kr ₁ Kr ₁ kr ₂ kr ₂	25,8	4,2	27,2	4,1
<i>Triticum petropavlovskyi</i> Udacz.		Kr ₁ Kr ₁ Kr ₂ Kr ₂	5,1	0,0	4,5	0,0
<i>Triticum compactum</i> Host.		Kr ₁ Kr ₁ kr ₂ kr ₂	11,2	9,4	10,7	9,1

Ймовірно його геном насичений домінантними генами несумісності. За нашими даними сорт пшениці спельта Зоря України також має домінантні гени несумісності, оскільки за гібридизації із житом формувалась невелика

кількість насіння (4,2–6,5 %). Однак за гібридизації сорту спельти Європа із житом отримували істотно більшу кількість гібридного насіння (12,8–13,8 %), що вказує на присутність у геномі рецесивного гена kr_2 . Цей сорт створений за гібридизації пшениці спельта із пшеницею м'якою [24]. Можливо рецесивні алелі гена Kr_2/k_r2 він успадкував від пшениці м'якої.

Види *Triticum compactum* Host. та *Triticum sphaerococcum* Perciv. ймовірно мають генотип $Kr_1Kr_1kr_2kr_2$, оскільки за гібридизації із житом зав'язування насіння було на рівні 30 %. Найвищий показник формування насіння (32,5–32,7 %) фіксували за схрещування сорту пшениці м'якої озимої Артеміда із житом. Можлива комбінація генів сорту – $kr_1kr_1Kr_2Kr_2$.

У 2017 р. запилювачами використовували лінію жита озимого 308 та зразок 330, що створений за гібридизації материнського компонента гібриду фірми Дзюнгер із самозапиленою лінією 149. Результати досліджень свідчать про наявність у геномі виду *Triticum petropavlovskyi* Udacz. та у сорту спельти Зоря України домінантних генів несумісності, оскільки зав'язування насіння за їх схрещування з житом було низьким (табл. 3).

Таблиця 3

Рівень зав'язування насіння за гібридизації різних видів гексаплоїдної пшениці з житом, 2017 р.

Материнська форма (пшениця)			Батьківська форма (жито)			
			Лінія 308		Зразок 330	
			Рівень зав'язування насіння, %	Вживання гібридних рослин, %	Рівень зав'язування насіння, %	Вживання гібридних рослин, %
Вид	Сорт	Ймовірна комбінація генів				
<i>Triticum spelta</i> L.	Зоря України	$Kr_1Kr_1Kr_2Kr_2$	5,8	0,0	5,2	0,0
	Європа	$Kr_1Kr_1kr_2kr_2$	10,7	0,0	11,1	0,0
<i>Triticum sphaerococcum</i> Perciv.	Шарада	$Kr_1Kr_1kr_2kr_2$	18,2	0,0	20,2	0,0
<i>Triticum petropavlovskyi</i> Udacz.		$Kr_1Kr_1Kr_2Kr_2$	4,8	0,0	5,1	0,0

<i>Triticum compactum</i> Host.	Kr1Kr1kr2kr2	12,2	9,5	12,8	9,7
---------------------------------	--------------	------	-----	------	-----

Ці результати підтверджуються даними попередніх років (табл. 1, 2). Для видів *Triticum compactum* Host., *Triticum sphaerococcum* Perciv. та сорту спельти Європа встановлено рівень зав'язування насіння в межах 10,7–20,2 %, що вказує на наявність у геномі рецесивного гена Kr_2/k_r2 .

Зразок жита озимого 330 краще схрещувався з гексаплоїдними видами пшениці, ніж лінія 308 і забезпечував вищий відсоток формування насіння. Проте суттєвих відмінностей за кількістю рослин, отриманих з насіння сформованого в комбінаціях схрещування з різними зразками жита озимого не виявлено. Життєздатне насіння отримано лише у комбінаціях з видом *Triticum compactum* Host., однак виділити і розмножити гібридні рослини не вдалося, оскільки гібридне покоління насіння не зав'язувало навіть після гібридизації з фертильною формою тритикале озимого.

Всього за три роки було прокастровано 5708 квіток, отримано 896 гібридних насінин, з яких лише 18 сформувало рослини (табл. 4).

Отже, в результаті проведених досліджень встановлено, що вид *Triticum spelta* L. має домінантні гени несумісності з житом, оскільки сорт Зоря України, у родоводі якого відсутні інші види пшениці за гібридизації з житом формував незначну кількість насіння (до 10 %). Сорт спельти Європа, що створено за гібридизації сортів спельти Зоря України та пшениці м'якої Копилівчанка, забезпечував вищу частку зав'язування насіння (понад 10 %). Ймовірно він має в геномі рецесивний ген Kr_2/k_r2 , що успадковувався від пшениці м'якої.

Вид *Triticum petropavlovskyi* Udacz. має домінантні гени несумісності, що ускладнює його гібридизацію з житом озимим, а гібридне насіння не проростає в польових умовах. За схрещування видів *Triticum compactum* Host та *Triticum sphaerococcum* Perciv. із житом зафіксовано вищий відсоток зав'язування насіння, проте отриманий насіннєвий матеріал за участі цього виду розмножити не вдалося, оскільки він не мав схожості.

Таблиця 4

**Результати гібридизації різних видів гексаплоїдної пшениці з жито,
2015–2017 рр.**

Комбінація схрещування: пшениця × жито озиме	Кількість, шт.		Рівень зав'язування насіння насіння, %	Кількість отриманих рослин, шт.	Схожість, %
	запиленних квіток	сформованих зерен			
Сорт Зоря України × зразок 193	225	20	8,8	0	0,0
Сорт Зоря України × зразок 169	222	21	9,5	0	0,0
Сорт Зоря України × лінія 308	227	14	6,2	0	0,0
Сорт Зоря України × лінія 309	236	10	4,2	0	0,0
Сорт Зоря України × зразок 330	230	12	5,2	0	0,0
Сорт Європа × зразок 193	205	31	15,2	3	9,7
Сорт Європа × зразок 169	218	39	18,2	0	0,0
Сорт Європа × лінія 308	220	26	11,8	1	3,8
Сорт Європа × лінія 309	218	30	13,8	1	3,3
Сорт Європа × зразок 330	217	24	11,1	0	0,0
Сорт Шарада × зразок 193	208	39	18,7	0	0,0
Сорт Шарада × зразок 169	208	44	21,2	0	0,0
Сорт Шарада × лінія 308	207	35	16,9	0	0,0
Сорт Шарада × лінія 309	208	40	19,2	0	0,0
Сорт Шарада × зразок 330	203	41	20,2	0	0,0
Сорт Фрея × зразок 169	167	59	35,2	2	3,4
Сорт Фрея × зразок 193	180	56	31,1	2	3,6
Сорт Артаплот × зразок 193	178	37	20,8	1	2,7
Сорт Артаплот × зразок 169	175	37	21,1	0	0,0
Сорт Артеміда × лінія 308	157	51	32,5	1	2,0
Сорт Артеміда × лінія 309	156	51	32,7	1	2,0
Сорт Подолянка × лінія 308	147	38	25,8	1	2,6
Сорт Подолянка × лінія 309	143	39	27,2	1	2,5
<i>Triticum petropavlovskyi</i> Udacz. × лінія 308	218	11	5,0	0	0,0
<i>Triticum petropavlovskyi</i> Udacz. × лінія 309	221	10	4,5	0	0,0
<i>Triticum petropavlovskyi</i> Udacz. × зразок 330	217	11	5,1	0	0,0
<i>Triticum compactum</i> Host. × лінія 308	162	19	11,7	2	10,5
<i>Triticum compactum</i> Host. × лінія 309	163	29	17,8	1	3,4
<i>Triticum compactum</i> Host. × зразок 330	172	22	12,8	1	4,5
Всього	5708	896	—	18	—