

ISSN 2409–5524

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНИЙ ІНСТИТУТ —
НАЦІОНАЛЬНИЙ ЦЕНТР
НАСІННЄЗНАВСТВА ТА СОРТОВИВЧЕННЯ

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

**СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНОГО ІНСТИТУТУ —
НАЦІОНАЛЬНОГО ЦЕНТРУ
НАСІННЄЗНАВСТВА ТА СОРТОВИВЧЕННЯ**

*Відповідальний редактор
член-кореспондент НААН України В. М. Соколов*

Видання засноване у 1956 році

Випуск 24 (64)

Одеса
СГІ–НЦНС
2014

УДК 633.1(051.2)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

СОКОЛОВ В. М. (відповід. редактор), к. с.-г. н.;
ЛИТВИНЕНКО М. А. (заст. відповід. редактора), д. с.-г. н.;
БАБАЯНЦ О. В., д. б. н.;
БЕЛОУСОВ А. О., д. б. н.;
ВАРЕНИК Б. Ф., к. с.-г. н.;
ВЛАСЕНКО В. А., д. с.-г. н., Сумський національний аграрний університет;
ГЕРАСИМЕНКО В. П., д. б. н., Одеський державний аграрний університет;
ДАВИДЕНКО О. Г., д. б. н., Інститут генетики та цитології Національної академії наук Республіки Білорусь;
ДРЕМЛЮК Г. К., д. с.-г. н.;
КІНДРУК М. О., д. с.-г. н.;
ЛАВРИНЕНКО Ю. О., д. с.-г. н., Інститут зрошуваного землеробства НААН України;
ЛИФЕНКО С. П., д. с.-г. н.;
ЛІНЧЕВСЬКИЙ А. А., д. с.-г. н.;
ЛЯХ В. О., д. б. н., Запорізький національний університет;
МАРТОН Л. Ч., доктор наук, Інститут сільського господарства Центру сільськогосподарських досліджень Угорської академії наук;
ПУШКАРЕНКО О. Я., к. б. н.;
РИБАЛКА О. І., д. б. н.;
СІЧКАР В. І., д. б. н.;
СТЕЛЬМАХ А. Ф., д. б. н.;
ФАЙТ В. І., д. б. н.

У Збірнику наукових праць Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення подані статті з загальної та молекулярної генетики, теорії та практики селекції і насінництва сільськогосподарських культур, зокрема із застосуванням новітніх підходів — молекулярних маркерів, пшенично-житніх транслокацій, з проблем поліпшення адаптивних властивостей та сортових якостей пшениці, тритикале, ячменю, сої тощо.

Збірник розрахований на науковців, селекціонерів, викладачів, аспірантів, студентів біологічного та сільськогосподарського профілів.

Під назвою «Збірник наукових праць Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення» виходить з 2002 року

© Селекційно-генетичний інститут —
Національний центр насіннєзнавства
та сортовивчення (СГІ–НЦНС), 2014

ЗМІСТ

ГЕНЕТИКА

ЛАМАРІ Н. П., ФАЙТ В. І., НАГУЛЯК О. І. Взаємозв'язок стоматографічних характеристик листа з морозостійкістю генотипів пшениці м'якої	6
БОЙКО М. С., МОЦНИЙ І. І., ШЕСТОПАЛ О. Л. Андрогагенез <i>in vitro</i> у ліній і популяцій пшениці м'якої озимої з різними строками досягання	20
ПОЛІЩУК С. С., МОРГУН Б. В., РИБАЛКА О. І. Поліморфізм генів <i>Vmy1</i> , <i>LOX-1</i> та <i>Wax</i> як детермінантів ознак харчової цінності зерна ячменю	28
ДОБРОВА Г. О. Вплив попередньої холодової та гормональної обробки колосся на андрогагенез <i>in vitro</i> сортів пшениці твердої озимої . . .	41
СУРЖЕНКО І. О., ЧЕРВОНІС М. В., ТОПОРАШ І. Г., ПОЛІЩУК С. С. Селекційно-генетичні методи поліпшення тритикале як біоенергетичної культури та його порівняльний аналіз з іншими зерновими культурами	48
ЖУКОВ Б. С., СЛІЩУК Г. І., ВОЛКОВА Н. Е. Аналіз гена <i>u1</i> у кукурудзи методами біоінформатики	57
ВОЛКОВА Н. Е. TILLING-технологія та функціональні молекулярні маркери в селекції томата	64
КАРАСТАН О. М., МУЛЮКІНА Н. А., ПЛАЧИНДА Г. В., ПАПІНА О. С. Ідентифікація та походження безнасіньових сортів винограду з колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова»	76

СЕЛЕКЦІЯ

ЛИТВИНЕНКО М. А., ТОПАЛ М. М. Селекційна цінність транслокації 1AL/1RS щодо стійкості до бурі та стеблової іржі на Півдні України . . .	85
ШПИКУЛЯК Є. А. Закономірності прояву та рівень мінливості сортових ідентифікаційних ознак пшениці м'якої озимої	95
ЛЕГКУН І. Б. Оцінка та добір у селекції озимого ячменю на стійкість до сажкових патогенів	104
СІЧКАР В. І., ЛАВРОВА Г. Д., ГАНЖЕЛО О. І., МОЛОДЧЕНКОВА О. О., АДАМОВСЬКА В. Г. Ефективність селекції сої на підвищення посухостійкості та покращення біохімічних властивостей насіння . . .	114
СЄЧНЯК В. Ю., ХОХЛОВ О. М. Характеристика інтродукованих сортів пшениці м'якої озимої послідовним розкриттям інформації . . .	125

НАСІННИЦТВО ТА НАСІННЄЗНАВСТВО

ВИШНЕВСЬКА А. М. Якість насіння пшениці озимої, сформованого і збереженого в різних умовах	138
ТИЩЕНКО А. В. Вплив умов зволоження і регулятора росту рослин Плантафол 30 на посівні якості насіння люцерни	146
БУГАЙОВ В. В., КІНДРУК М. О. Особливості проростання насіння малопоширених видів багаторічних злакових трав	152

СОДЕРЖАНИЕ

ГЕНЕТИКА

ЛАМАРИ Н. П., ФАЙТ В. И., НАГУЛЯК О. И. Взаимосвязь стоматографических характеристик листа с морозостойкостью генотипов пшеницы мягкой	6
БОЙКО М. С., МОЦНЫЙ И. И., ШЕСТОПАЛ О. Л. Андрогенез <i>in vitro</i> у линий и популяций пшеницы мягкой озимой с разными сроками созревания	20
ПОЛИЩУК С. С., МОРГУН Б. В., РЫБАЛКА А. И. Полиморфизм генов <i>Vmy1</i> , <i>LOX-1</i> и <i>Wax</i> как детерминантов признаков пищевой ценности зерна ячменя	28
ДОБРОВА А. А. Влияние предварительной холодовой и гормональной обработки колосьев на андрогенез <i>in vitro</i> сортов пшеницы твердой озимой	41
СУРЖЕНКО И. А., ЧЕРВОНИС М. В., ТОПОРАШ И. Г., ПОЛИЩУК С. С. Селекционно-генетические методы улучшения тритикале как биоэнер- гетической культуры и его сравнительный анализ с другими зерновыми культурами	48
ЖУКОВ Б. С., СЛИЩУК Г. И., ВОЛКОВА Н. Э. Анализ гена <i>u1</i> у кукурузы методами биоинформатики	57
ВОЛКОВА Н. Э. TILLING-технология и функциональные молекулярные маркеры в селекции томата	64
КАРАСТАН О. М., МУЛЮКИНА Н. А., ПЛАЧИНДА Г. В., ПАПИНА Е. С. Идентификация и происхождение бессемянных сортов винограда из коллекции ННЦ «Институт виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова»	76

СЕЛЕКЦИЯ

ЛИТВИНЕНКО Н. А., ТОПАЛ Н. Н. Селекционная ценность транслокации 1AL/1RS по устойчивости к бурой и стеблевой ржавчине на Юге Украины	85
ШПИКУЛЯК Е. А. Закономерности проявления и уровень изменчивости сортовых идентификационных признаков у пшеницы мягкой озимой	95
ЛЕГКУН И. Б. Оценка и отбор в селекции озимого ячменя на устойчивость к головневым патогенам	104
СИЧКАРЬ В. И., ЛАВРОВА Г. Д., ГАНЖЕЛО О. И., МОЛОДЧЕНКОВА О. О., АДАМОВСКАЯ В. Г. Эффективность селекции сои на повышение засухоустойчивости и улучшение биохимических свойств семян	114
СЕЧНЯК В. Е., ХОХЛОВ А. Н. Характеристика интродуцированных сортов пшеницы мягкой озимой последовательным раскрытием информации	125

СЕМЕНОВОДСТВО И СЕМЕНОВЕДЕНИЕ

ВИШНЕВСКАЯ А. Н. Качество семян пшеницы озимой, сформированных и сохраненных в разных условиях	138
ТИЩЕНКО А. В. Влияние условий увлажнения и регулятора роста растений Пантафол 30 на посевные качества семян люцерны	146
БУГАЕВ В. В., КИНДРУК Н. А. Особенности прорастания семян малораспространенных видов многолетних злаковых трав	152

CONTENTS

GENETICS

LAMARI N. P., FAYT V. I., NAGULIAK O. I. Relationship between stomatal leaf characteristics and frost resistance of bread wheat genotypes	6
BOYKO M. S., MOTSYNYI I. I., SHESTOPAL O. L. <i>In vitro</i> androgenesis in winter bread wheat lines and populations of various ripening	20
POLYSHCHUK S. S., MORGUN B. V., RYBALKO O. I. Polymorphism of the <i>Bmy1</i> , <i>LOX-1</i> and <i>Wax</i> genes as determinants of the barley grain nutrition value	28
DOBROVA G. O. The effect of cold and hormonal spikes pre-treatment on <i>in vitro</i> androgenesis in winter durum wheat cultivars	41
SURZHENKO I. O., CHERVONIS M. V., TOPORASH I. G., POLISHCHUK S. S. Breeding and genetic methods of triticale improvement as bioenergetic crop and its comparative analysis with other grain crops	48
ZHUKOV B. S., SLISCHUK G. I., VOLKOVA N. E. The analysis of the gene <i>y1</i> in maize by the methods of bioinformatics	57
VOLKOVA N. E. Tilling-technology and functional molecular markers in tomato breeding (review)	64
KARASTAN O. M., MULYUKINA N. A., PLACHINDA G. V., PAPINA O. S. The identification and origin of NSC «Tairov Research Institute of Viticulture and Wine-Making» collection seedless grape varieties	76

BREEDING

LYTVYNENKO M. A., TOPAL M. M. Breeding value of 1AL/1RS translocation according resistance to leaf and stem rusts in the South of Ukraine	85
SHPIKULIAK Ye. A. Manifestation and variability level of varietal identifying traits in winter bread wheat	95
LEGKUN I. B. Evaluation and selection for resistance to smut pathogens in winter barley breeding program	104
SICHKAR V. I., LAVROVA G. D., GANZHELO O. I., MOLODCHENKOVA O. O., ADAMOVSKA V. G. Breeding efficiency for drought resistance and seed quality improvement in soybean	114
SECHNIAK V. YU., KHOKHLOV O. M. The characteristics of the introduced varieties of winter bread wheat with successive information disclosure . . .	125

SEED INVESTIGATION

VISCHNEVSKA A. M. The viability of winter wheat seeds which were formed in adverse weather and stored under various environment	138
TISHCHENKO A. V. Sowing quality of alfalfa seeds forming under various humidity environment and plant treatment with Plantafol 30	146
BUHAIOV V. V., KINDRUK M. O. Features of seed germination in rare species of perennial cereal grasses	152

ГЕНЕТИКА

УДК 633.11 [575.167:576+581.821.1+58.036.5]

Н. П. ЛАМАРИ, науч. сотруд.,
В. И. ФАЙТ, д. б. н., с. н. с., зам. дир. по науч. раб.,
О. И. НАГУЛЯК, науч. сотруд.
СГИ–НЦСС, Одесса
natalamari@rambler.ru

ВЗАИМОСВЯЗЬ СТОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛИСТА С МОРОЗОСТОЙКОСТЬЮ ГЕНОТИПОВ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ

Исследовали связь варьирования стоматографических признаков листа с уровнем морозостойкости сортов (потомство индивидуальных растений) пшеницы мягкой. У 21 % сортов высокий уровень морозостойкости достоверно коррелировал с большей плотностью устьиц и меньшей длиной замыкающих клеток ($r_s = 0,46 \pm \pm 0,215$ и $-0,46 \pm 0,215$ соответственно). По результатам кластерного анализа выделена группа сортов, в которой высокий уровень морозостойкости ассоциирован с меньшей длиной замыкающих клеток и высокой плотностью расположения устьиц.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., устьица, замыкающие клетки, морозостойкость.

Введение. Низкие температуры являются одним из негативных абиотических стрессовых факторов среды, лимитирующих продуктивность и ареал сортов озимых культур. Воздействие мороза вызывает в клетках и тканях структурные и функциональные изменения, значительная часть которых носит защитно-приспособительный характер. В процессе адаптации к низким температурам происходит перестройка ростовых процессов, что, в свою очередь, приводит к снижению негативного воздействия промораживания на клеточные структуры. Одним из аспектов механизма устойчивости являются стоматографические признаки — длина замыкающих клеток и плотность расположения устьиц, с помощью которых растения способны контролировать свой уровень газо- и водообмена в соответствующей окружающей среде. Данный контроль осуществляется в двух направлениях: во-первых, растения могут регулировать тургор замыкающих клеток, непосредственно уменьшая устьичную диафрагму, и, как следствие этого, потери воды и газообмен, во-вторых, — путем изменения размеров замыкающих клеток устьиц и устьичной плотности в процессе развития. Casson и Hetherington [1] отметили влияние климатических факторов, таких как свет, CO_2 , относи-

тельная влажность и дефицит воды, а также гормонов, на варьирование плотности расположения устьиц, хотя механизмы, которые модулируют данные эффекторы, изучены недостаточно. Limin и Fowler [2] было предложено использовать длину замыкающих клеток устьиц как маркерный признак при отборе на повышение устойчивости растений к низким температурам. Связь варьирования плотности расположения устьиц листа в полевых условиях с уровнем морозостойкости раскустившихся растений (метод пучков) отмечена в наборе рекомбинантно-инбредных линий комбинации скрещивания Одесская 16 / Безостая 1 [3]. В свою очередь меньшая длина замыкающих клеток устьиц листа в наборе сортов отмечена у генотипов с более высоким уровнем морозостойкости [4].

У многих видов растений под воздействием положительных низких температур наблюдается увеличение морозостойкости — явление, известное как акклиматизация, или закаливание [5, 6]. В течение данного периода низкотемпературного воздействия аккумуляция нескольких регулируемых температурой генов (COR) коррелирует с уровнем морозостойкости [7]. Показано, что промоутеры нескольких генов, участвующих в адаптации к холоду и дегидратации у *Arabidopsis thaliana*, содержат С-повторы (CRT) и чувствительные к дегидратации элементы (DRE) (dehydration responsive element) [8]. Также сообщалось о DRE / CRT связанных последовательностях как о чувствительных к низкотемпературному воздействию элементах (LTREs) в промоутерах *Brassica napus* BN115 [9] и *Triticum aestivum* L. wcs120 [10] генов. CBF/DREB (C-repet binding factor / dehydration drought responsive element binding) белки — наиболее характерные факторы транскрипции, которые связаны с CRT / DRE элементом и активируются экспрессией генов, чувствительных к воздействию холода и / или засухи [11, 12]. Так, у пшеницы выявлено несколько CBF генов, идентичных ICE1 (INDUCER of CBF EXPRESSION 1) гену *Arabidopsis thaliana* [13], ключевая регуляторная роль которых, как в процессе адаптации к условиям холодового стресса, так и в регуляции процессов развития устьиц, отмечена рядом исследователей [14, 15]. Двойная роль ICE1 генов — в транскрипционной регуляции к холоду и устьичной дифференциации — может быть отражением ключевой стратегии, основанной на объединении программ экологической адаптации и развития у наземных растений [16].

Целью настоящей работы является оценка взаимосвязи варьирования длины замыкающих клеток и/или плотности расположения устьиц листа с морозостойкостью проростков озимой пшеницы в зависимости от условий закаливания и температуры промораживания.

Материалы и методы. В качестве исходного материала использовали выборку из 18 сортов (потомство индивидуальных растений) озимой мягкой пшеницы, один из которых (Одесская красноколосая) был представлен двумя линиями. Преобладали сорта селекции СГІ–НЦСС (Альбатрос одесский, Борвий, Бунчук, Красень, Лузановка одесская, Одес-

ская 16, Одесская красноколосая, Пылыпивка, Порада, Прима одесская и Ужинок), также присутствовали сорта Мироновского института пшеницы им. В. М. Ремесло (Мироновская 808) и различных НИУ России (Безостая 1, Волжская 7, Воронежская 85, Оренбургская 48, Тамбовская 12, Ульяновка 76). Семена высевали на однорядковых делянках (длина ряда 1 м) по 20 зерновок на рядок с площадью питания $30 \times 5 \text{ см}^2$ рендомизированными блоками в трех повторениях в первой декаде октября 2013 года на опытном участке отдела общей и молекулярной генетики СГІ–НЦСС. Морозостойкость (% живых растений) сортов оценивали в фазе проростков, которые выращивали в бумажных рулонах согласно общепринятой методики [17]. Растения закаливали в условиях удлиненного (16 часов) дня с последующим промораживанием при -12 и -13°C (-12 ДД и -13 ДД соответственно) и укороченного дня (12 часов) при -12°C (-12 КД). Для статистических расчетов процент живых растений преобразовывали способом угловой трансформации в единицы ϕ -преобразования Фишера [18].

Измеряли стоматографические показатели рендомизированно на средней части абаксиальной поверхности полностью сформировавшегося третьего листа с использованием окулярного винтового микрометра М4Б-1–15 методом светлого поля в проходящем свете при увеличении 15×20 [19]. Для анализа одного генотипа у каждого из 5–10 растений проводили по 20 определений длины замыкающих клеток и количества устьиц. Плотность расположения устьиц рассчитывали путем деления количества устьиц в пределах окулярной решетки на площадь данной решетки ($0,8 \text{ мм}^2$). Для расчетов индивидуальных и генотипических показателей по признакам «длина замыкающих клеток» и «плотность расположения устьиц» использовали среднюю арифметическую и среднюю гармоническую соответственно для каждого признака [20].

Проверку нормальности распределения значений признаков осуществляли при помощи критерия Колмогорова-Смирнова (λ) [21]. Оценку достоверности влияния фактора на варьирование признака проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с помощью t -критерия Стьюдента для независимых выборок и показателя НСР (наименьшая существенная разница) — оценивали значимость различий при попарном сравнении и в дисперсионном комплексе между генотипами соответственно. Для определения тесноты корреляционной связи и варьирования признаков использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s) и коэффициент вариации (CV) соответственно [22, 23]. Достоверность разницы между двумя коэффициентами корреляции рассчитывали согласно рекомендациям Рокицкого [24].

Распределение генотипов на фенотипические классы по совокупности коррелированных признаков осуществляли методом Уорда — одной из иерархических процедур кластерного анализа [25]. Показателем сходства между кластерами в данном анализе является евклидово расстояние. Для определения количества кластеров использовали пороого-

вое евклидово расстояние на графике процесса объединения, то есть расстояние, при превышении которого объединяться будут слишком отдаленные генотипы.

Результаты и обсуждение. Предварительная оценка по критерию Колмогорова-Смирнова подтвердила соответствие распределения значений длины замыкающих клеток (ЗКУ), плотности расположения устьиц (ПРУ) и морозостойкости в изученной выборке генотипов нормальному распределению (табл. 1) и правомерность применения метода дисперсионного анализа для последующих расчетов. Обусловленность варьирования значений как стоматографических признаков, так и уровня морозостойкости, влиянием фактора «генотип» подтверждена достоверными значениями критерия Фишера.

Длина замыкающих клеток устьиц сортов изученного набора варьировала от 67,3 до 79,3 мкм. Максимальной длиной ЗКУ характеризовалась вторая линия сорта Одесская красноколосая/2 (79,3 мкм). Достоверно меньшая на 3,0–9,0 мкм ($HCp_{0,05} = 2,2$ мкм) сформировалась длина ЗКУ у остальных генотипов изученного набора.

По плотности расположения устьиц различия между генотипами составили 14,1 шт./мм² ($HCp_{0,05} = 2,6$ шт./мм²). Максимальное количество устьиц на единицу площади выявлено у сорта Тамбовская 12 (36,9 шт./мм²). Все остальные сорта изученного набора достоверно уступали указанному сорту. Наименьшая ПРУ отмечена у сорта Красень (22,8 шт./мм²). Вторая линия сорта Одесская красноколосая/2 (23,4 шт./мм²), а также сорта Лузановка одесская (24,0 шт./мм²), Безостая 1 (24,6 шт./мм²) сформировали несколько большее количество устьиц на единицу площади листа, но данное увеличение оказалось незначительным. Следует отметить наличие средней отрицательной связи ($r_s = -0,69$) между варьированием длины ЗКУ и ПРУ в данном наборе, о чем свидетельствовала высокая достоверность ($P \leq 0,01$) коэффициента ранговой корреляции между данными признаками. Следовательно, у почти 50 % генотипов ($R^2=0,48$) увеличение длины ЗКУ сопряжено с уменьшением плотности расположения устьиц или наоборот — увеличение ПРУ с уменьшением длины ЗКУ.

Большие различия между сортами по уровню морозостойкости ($CV=47,4$ %) выявлены при закаливании растений в условиях удлиненного (16 часов) дня и температуре промораживания -13 °С (-13 °С ДД). В данном варианте средний уровень морозостойкости сортов составил 44,8 %, а максимальный и минимальный 87,5 % (Ульяновка 76) и 10,0 % (вторая линия сорта Одесская красноколосая/2) соответственно. Четыре сорта (Безостая 1, Порада, Альбатрос одесский и Волжская 7) достоверно не отличались по данному признаку от сорта Ульяновка 76, а Лузановка одесская (13,5 %), Бунчук (19,5 %), Тамбовская 12 (25,2 %), Оренбургская 48 (27,4 %) и Воронежская 85 (33,7 %) — от линии Одесская красноколосая/2.

Таблица 1
Средние значения stomatografических признаков и морозостойкости сортов пшеницы при разных условиях закалывания

Сорт	Длина ЗКУ', мкм $\bar{x} \pm S_x$	ПРУ ² , шт./мм ² , $Hx \pm S_x$	Морозостойкость						d_1	d_2
			-12°C ДД^3		-13°C ДД^4		-12°C КД^5			
			$\bar{}, \bar{x}$	$\bar{\varphi}, \bar{x} \pm S_x$	$\bar{}, \bar{x}$	$\bar{\varphi}, \bar{x} \pm S_x$	$\bar{}, \bar{x}$	$\bar{\varphi}, \bar{x} \pm S_x$		
Альбатрос одесский	73,0±1,78	27,7±2,06	91,4	2,6±0,12	66,9	2,0±0,34	66,2	1,9±0,17	24,5	25,2*
Безостая 1	75,9±0,99	24,6±1,17	23,2	1,0±0,04	74,8	2,1±0,28	34,6	1,3±0,05	-51,6*	-11,4*
Борвй	76,3±1,10	27,0±1,26	64,1	1,9±0,02	51,1	1,6±0,31	67,3	2,0±0,25	13,0	-3,2
Бунчук	71,7±1,24	25,7±0,98	93,3	2,6±0,06	19,5	0,9±0,10	91,3	2,6±0,07	73,8**	2,0
Волжская 7	73,9±0,87	27,9±0,89	90,0	2,5±0,16	64,9	1,9±0,41	82,9	2,3±0,19	25,1	7,1
Воронежская 85	71,9±1,04	27,7±1,26	87,3	2,5±0,14	33,7	1,2±0,14	76,7	2,2±0,14	53,6**	10,6
Красень	69,4±0,83	22,8±1,12	87,3	2,6±0,21	40,8	1,4±0,23	65,3	1,9±0,07	46,5**	22,0*
Лузановка одесская	76,0±1,65	24,0±1,39	26,9	1,0±0,33	13,5	0,6±0,33	34,6	1,2±0,25	13,4	-7,7
Мионовская 808	70,7±1,35	29,5±2,14	92,8	2,7±0,24	49,6	1,6±0,25	76,7	2,1±0,11	43,2*	16,1
Одесская 16	67,8±0,70	31,4±0,88	93,1	2,6±0,04	45,2	1,5±0,16	68,9	2,0±0,12	47,9**	24,2**
Одесская красноколосая/1	74,6±0,97	27,7±0,67	32,9	1,2±0,25	36,7	1,3±0,09	39,6	1,3±0,32	-3,8	-6,8
Одесская красноколосая/2	79,3±0,56	23,4±0,98	48,9	1,5±0,07	10,0	0,5±0,27	60,7	1,8±0,01	38,9*	-11,8*
Оренбургская 48	67,3±1,47	31,3±1,57	96,7	2,8±0,15	27,4	1,0±0,35	69,3	2,0±0,21	69,3**	27,4*
Пыльпивка	71,0±0,81	27,8±0,83	69,1	2,0±0,14	37,9	1,3±0,19	42,8	1,4±0,18	31,2*	26,3*
Порада	73,6±0,68	25,6±0,96	96,4	2,9±0,12	70,4	2,0±0,12	86,8	2,4±0,07	26,0**	9,6**
Прима одесская	69,0±1,80	29,0±1,37	87,4	2,6±0,32	46,8	1,5±0,17	96,7	2,8±0,15	40,6*	-9,3
Тамбовская 12	68,6±2,21	36,9±3,38	82,4	2,3±0,14	25,2	0,9±0,48	78,7	2,2±0,06	57,2*	3,7
Ужинок	73,8±0,57	25,9±0,52	94,0	2,7±0,10	50,2	1,5±0,46	58,0	1,7±0,16	43,8*	36,0**
Ульяновка 76	70,6±1,00	28,2±0,87	72,0	2,1±0,21	87,5	2,4±0,09	65,9	1,9±0,15	-15,4	6,1
$\lambda_{\text{фактическое}}$	0,05	0,12	–	0,15	–	0,06	–	0,07	–	–
F _{фактическое}	7,73**	6,42**	–	10,45**	–	3,38**	–	6,47**	–	–
НСР _{0,05}	2,2	2,6	–	0,3	–	0,5	–	0,3	–	–

Примечание: ¹ ЗКУ — замыкающие клетки устьиц; ² ПРУ — плотность расположения устьиц; ³ -12 °С ДД и ⁴ -13 °С ДД — закалывание в условиях удлиненого (16 часов) дня и промораживание при -12 и -13 °С, соответственно; ⁵ -12 °С КД — закалывание в условиях укороченного (12 часов) дня и промораживание при -12 °С; d_1 — разница между вариантами -12 °С ДД и -13 °С ДД; d_2 — разница между вариантами -12 °С ДД и -12 °С КД; * и ** — достоверно при P≤0,05 и P≤0,01 соответственно.

В условиях удлиненного (16 часов) дня повышение температуры промораживания до -12°C (-12°C ДД) привело к уменьшению варьирования на 14,7 % ($\text{CV}=32,7\%$) и достоверному ($t=4,25$; $t_{0,05}=2,04$, $\text{df}=36$) увеличению на 30,4 % среднего уровня морозостойкости сортов до 75,2 % в сравнении с таковым в варианте -13°C ДД, а также к смене рангов сортов по морозостойкости. Размах варьирования уровня морозостойкости сортов в варианте опыта -12°C ДД составил 73,5 % — от 23,2 (Безостая 1) до 96,7 % (Оренбургская 48). Показатели морозостойкости Лузановки одесской (26,9 %) и первой линии Одесской красноколосой/1 (32,9 %) достоверно не отличались от таковых у Безостой 1. У сортов Порада, Ужинок, Бунчук, Одесская 16, Мироновская 808, Альбатрос одесский, Волжская 7, Прима одесская, Красень, Воронежская 85 сформировался более низкий уровень морозостойкости, который достоверно не отличался от такового Оренбургской 48. Следует также отметить достоверное увеличение уровня морозостойкости большинства сортов (Бунчук, Оренбургская 48, Тамбовская 12, Воронежская 85, Одесская 16, Красень, Ужинок, Мироновская 808, Прима одесская, Одесская красноколосая /2, Пылыпивка, Порада) на 73,9–26,0 % в варианте опыта -12°C ДД в сравнении с таковым -13°C ДД. В то же время увеличение температуры промораживания на один градус вызвало существенное снижение уровня морозостойкости сорта Безостая 1 на 52 %.

Сокращение на четыре часа продолжительности дня в период закаливания (укороченный 12-часовой день) и последующее промораживание при -12°C способствовало уменьшению варьирования признака на 5,2 % ($\text{CV}=27,5\%$) и недостоверному ($t=1,55$; $t_{0,05}=2,04$; $\text{df}=36$) снижению среднего уровня морозостойкости набора сортов на 8,7 % (до 66,5 %) по сравнению с вариантом -12°C ДД. Разнообразие сортов по морозостойкости в данном варианте составило 62,1 % — от 34,6 у Лузановки одесской и Безостой 1 до 96,7 % у Примы одесской. Первая линия сорта Одесская красноколосая/1 (39,6 %) и сорт Пылыпивка (42,8 %) достоверно не отличались от первых двух сортов, а сорт Бунчук (91,3 %) — от сорта Прима одесская. Также в данных условиях отметили снижение уровня морозостойкости сортов: Ужинок, Оренбургская 48, Пылыпивка, Альбатрос одесский, Одесская 16, Красень и Порада на 36,0–9,6 % в сравнении с таковым при -12°C и закаливании в условиях 16-часового дня, в свою очередь у второй линии сорта Одесская красноколосая/2 и Безостой 1, наоборот, — увеличение на 11,8 и 11,4 % соответственно.

Коэффициент ранговой корреляции между двумя вариантами -12°C КД и -12°C ДД равен $r_s=0,60 \pm 0,194$ ($P \leq 0,01$), т. е. независимо от различий по продолжительности дня в процессе закаливания ранги 36 % образцов по морозостойкости при -12°C совпадают. В то же время корреляция между значениями морозостойкости вариантов -12°C КД и -13°C ДД отсутствовала ($r_s=0,06 \pm 0,242$), как и между вариантами -12°C ДД и -13°C ДД ($r_s=0,16 \pm 0,239$).

В полевых условиях закаливание растений озимой пшеницы проходит в условиях естественного укороченного дня. Ранее нами было показано [4], что высокий уровень морозостойкости раскутившихся растений в середине января и конце февраля связан с меньшей длиной замыкающих клеток устьиц и большей ПРУ. В изученном наборе сортов также выявлена достоверная связь как большей плотности устьиц, так и меньшей длины замыкающих клеток сортов с высоким уровнем морозостойкости при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ и закаливании в условиях укороченного дня ($r_s = 0,46 \pm 0,215$ и $-0,46 \pm 0,215$ соответственно). Следовательно, у 21 % ($R^2=0,21$) сортов данной выборки высокий уровень морозостойкости обусловлен наличием большего количества устьиц на единицу площади листа и меньшей длиной замыкающих клеток. В частности, максимальная морозостойкость в данном варианте опыта ($-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ КД) отмечена у мелкоклеточного сорта Прима одесская и сорта со средней длиной клеток Бунчук (рис. 1, а), а минимальная морозостойкость — у трех наиболее крупноклеточных сортов: Лузановка одесская, Безостая 1, Одесская красноколосая/1 и у относительно мелкоклеточного сорта Пылыпивка. Вместе с тем средние значения морозостойкости групп сортов с минимальными, средними и максимальными значениями длины замыкающих клеток составили 75,8, 63,3 и 60,7 % соответственно.

Максимальная ПРУ сорта Тамбовская 12 и минимальная сорта Красень связаны с довольно высоким (79 %) и средним соответственно (65 %) уровнем морозостойкости при промораживании $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ КД (рис. 1, б) Максимальную морозостойкость в данном варианте опыта отметили у сорта Прима одесская — со средней плотностью расположения устьиц, а минимальную — у двух пар сортов с минимальными (Лузановка одесская и Безостая 1) и со средними (Одесская красноколосая/1 и Пылыпивка) значениями данного признака. Достоверно выше ($t = 2,33$; $t_{0,05} = 2,12$) на 21,9 % средний уровень морозостойкости зафиксирован у группы сортов со средними значениями ПРУ в сравнении с минимальными, который составил 48,8 %.

Увеличение на четыре часа продолжительности дня в период закаливания в варианте опыта $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ДД достоверно не способствовало как усилению ($t=0,34$; $t_{0,05}=2,04$, $df = 34$), так и ослаблению ($t=-0,53$; $t_{0,05}=2,04$, $df = 34$) связей между варьированием уровня морозостойкости и значений стоматографических признаков — длины ЗКУ ($r_s=0,55 \pm 0,210$, $P \leq 0,05$) и ПРУ ($r_s=-0,30 \pm 0,231$, $P \geq 0,05$) соответственно в сравнении с таковыми, полученными в варианте опыта $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ КД (см. выше по тексту). Максимальная морозостойкость в варианте опыта $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ДД связана как с мелкими (Оренбургская 48, Одесская 16, Прима одесская и Красень), так и со средними (Мироновская 808, Бунчук, Альбатрос одесский, Ужинок и Порада) размерами замыкающих клеток (рис. 1, в). В свою очередь минимальная морозостойкость отмечена у сортов Безостая 1, Лузановка одесская и первой линии Одесская красноколосая со средними

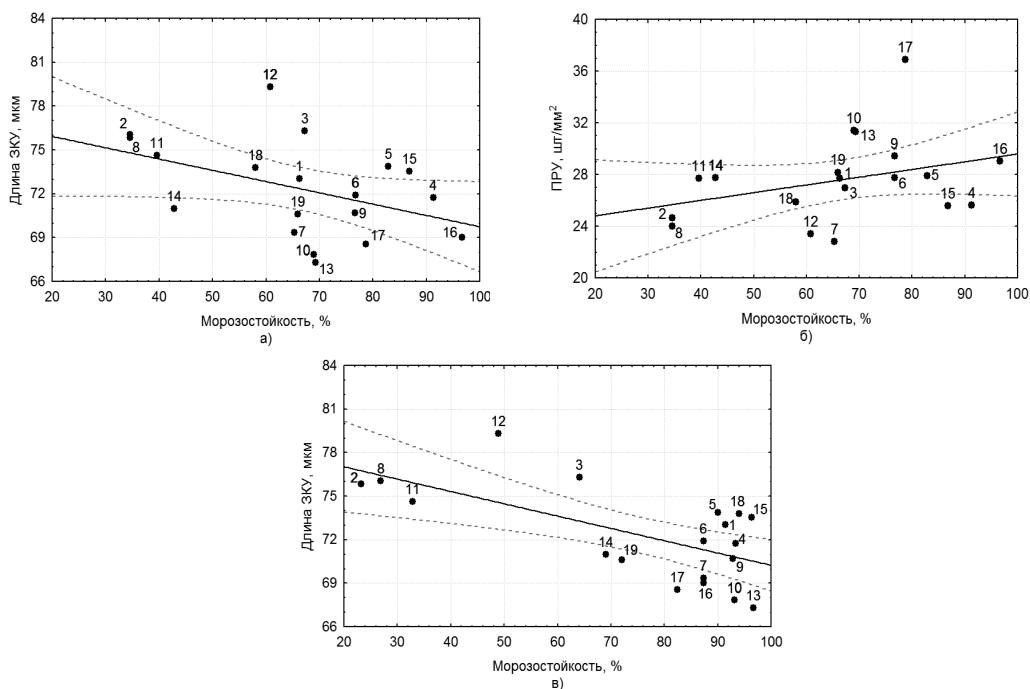


Рис. 1. Диаграммы рассеивания сортов в корреляционном поле и линия регрессии: а) длины ЗКУ и морозостойкости при -12°C КД; б) ПРУ и морозостойкости при -12°C КД; в) длины ЗКУ и морозостойкости при -12°C ДД. Сорта: 1 — Альбатрос одесский; 2 — Безостая 1; 3 — Борвий; 4 — Бунчук; 5 — Волжская 7; 6 — Воронежская 85; 7 — Красень; 8 — Лузановка одесская; 9 — Мироновская 808; 10 — Одесская 16; 11 — Одесская красноколосая/1; 12 — Одесская красноколосая/2; 13 — Оренбургская 48; 14 — Пылыпивка; 15 — Порада; 16 — Прима одесская; 17 — Тамбовская 12; 18 — Ужинок; 19 — Ульяновка 76

размерами клеток. В варианте опыта -12°C ДД средний уровень морозостойкости группы сортов с минимальными размерами замыкающих клеток составил 89,4 %, что достоверно ($t = 4,84$; $t_{0,01} = 3,36$, $df = 8$) превысило таковой — с максимальными значениями по данному признаку на 40,5 %.

По характеру распределения генотипов наиболее контрастное деление по уровню морозостойкости получено в варианте опыта -12°C ДД в сравнении с таковым при -12°C КД, что может быть обусловлено действием генов фотопериодической чувствительности (рис. 1, в). На графиках диаграмм рассеивания расположение группы крупноклеточных сортов (в левом верхнем углу) с низкой морозостойкостью не претерпело изменений в результате варьирования продолжительности дня при закаливании и последующем промораживании при -12°C (рис. 1, а и в). Размещение же мелкоклеточных сортов вдоль линии регрессии с более высокой морозостойкостью (в нижнем правом углу) было менее компактным при промораживании -12°C КД по сравнению с таковым при -12°C ДД. Следовательно, увеличение продолжительности дня при за-

каливании с 12 до 16 часов способствует более контрастному распределению генотипов по уровню морозостойкости проростков при -12°C .

При закаливании в условиях удлиненного дня и промораживании при -13°C связь длины ЗКУ и ПРУ с морозостойкостью отсутствовала ($r_s=0,06 \pm 0,242$ по обоим признакам). Данный факт, видимо, обусловлен слишком низкой температурой промораживания, которая является критической для жизнеспособности растений на стадии проростков и, как следствие, не способствует адекватной дифференциации генотипов данной выборки. Следовательно, уровень морозостойкости проростков в большей мере зависел от температурного режима промораживания, и в меньшей — от продолжительности дня при закаливании. Наличие достоверных корреляционных связей между стоматографическими признаками и морозостойкостью при -12°C ДД и -12°C КД оправдывало их объединение в комбинацию как интегральную характеристику для проведения кластерного анализа и установления уровня гетерогенности изученной выборки генотипов. На рисунке 2 отображена близость между группами генотипов по оси ОХ, выраженная в единицах евклидова расстояния, и этапы объединения — по оси ОУ. Координаты первой и второй точек «перелома» по оси ОУ — 3,7 и 6,3 свидетельствуют о целесообразности подсчета числа кластеров на уровнях данных значений евклидова расстояния. После выбора порогового расстояния провели перпендикуляр через точку, соответствующую выбранному расстоянию, и подсчитали количество пересечений данной линии с «ветвями» дендрограммы (рис. 3).

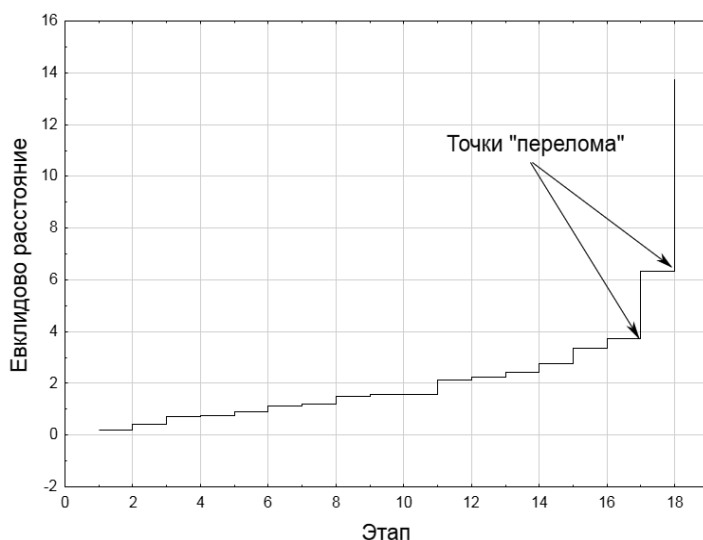


Рис. 2. Расстояние между группами генотипов с указанием точек «перелома» и максимальных значений дистанций по комплексу признаков (длина замыкающих клеток устьиц листа, плотность расположения устьиц листа и морозостойкость проростков)

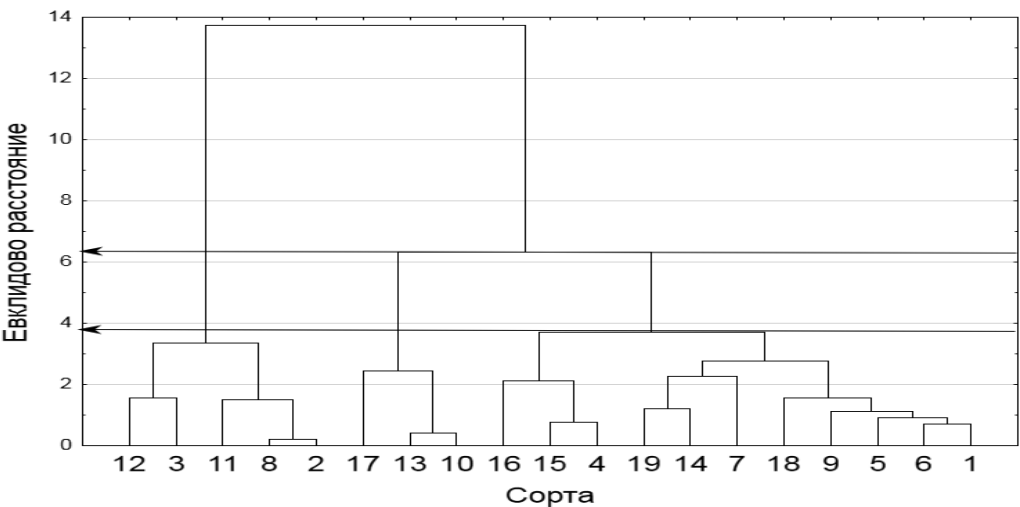


Рис. 3. Дендрограмма кластерного анализа выборки сортов озимой пшеницы по комплексу коррелированных характеристик
Примечание: названия сортов — см. рис. 1.

Вследствие того, что меньший процент достоверных различий между кластерами при попарном сравнении по изученным признакам получен между четырьмя (60 %) в сравнении с таковым между тремя кластерами (75 %), последний был выбран как самый информативный на уровне 6,3 евклидового расстояния. Средние значения изученных признаков трех кластеров, а также достоверность различий при попарном сравнении последних приведены в таблице 2.

Таблица 2

Средние значения стоматографических признаков и морозостойкости групп сортов озимой пшеницы различных кластеров

Клас-тер	n	Длина ЗКУ, мкм, $\bar{x} \pm S\bar{x}$	ПРУ, шт./мм, $Hx \pm Sx$	-12°C ДД		-12°C КД	
				%, $\bar{x}$	$\varphi, \bar{x} \pm S\bar{x}$	%, $\bar{x}$	$\varphi, \bar{x} \pm S\bar{x}$
1	5	76,4±0,73 ^{2,3*}	25,3±0,94 ²	39,2	1,3±0,13 ^{2,3}	47,4	1,5±0,16 ^{2,3}
2	3	67,9±0,94 ^{1,3}	33,2±1,22 ^{1,3}	90,7	2,6±0,17 ¹	72,3	2,0±0,21 ¹
3	11	71,7±0,49 ^{1,2}	27,1±0,64 ²	87,4	2,5±0,09 ¹	73,6	2,1±0,11 ¹
$\bar{x}$	6	72,0±4,28	28,2±2,39	72,4	2,1±0,41	64,4	1,9±0,19

Примечание: расшифровка сокращений — см. табл.1; *¹ — достоверность при $P \leq 0,05$ различий при попарном сравнении с кластером 1; ² — с кластером 2; ³ — с кластером 3.

По признаку «длина ЗКУ» выявили достоверные ($P \leq 0,05$) различия между кластерами. Максимальные значения по данному признаку отмечены в первом кластере, а минимальные — во втором, в свою очередь третий кластер занял промежуточное положение. По плотности устьиц второй кластер существенно превысил на 6,1 и 7,9 шт./мм² третий и пер-

вый кластеры соответственно, в свою очередь последние между собой не различались. По морозостойкости при обоих режимах закаливания первый кластер достоверно уступал двум другим, из которых тенденция к увеличению данного признака в варианте -12°C ДД отмечена у второго кластера, а в варианте -12°C КД — у третьего.

В первом кластере преобладали сорта с большей длиной ЗКУ, меньшей плотностью устьиц и более низким уровнем морозостойкости. У сортов, сформировавших второй кластер, прослеживалась связь высокого уровня морозостойкости при -12°C ДД с минимальной длиной ЗКУ и максимальной ПРУ. В третий кластер вошли сорта с разным уровнем морозостойкости. Так, по результатам промораживания при -12°C ДД преобладали сорта (82 %) с уровнем морозостойкости, превысившим средний показатель по выборке. В свою очередь по результатам промораживания после закаливания на укороченном дне доля таких сортов уменьшилась до 54 %. Также в третьем кластере преобладали сорта с длиной ЗКУ, значения которой были меньше средней по выборке (64 %). Более высокий уровень морозостойкости при закаливании в условиях укороченного дня, в сравнении с таковым удлиненного, может свидетельствовать о меньшей чувствительности к длине дня сортов [26], отнесенных к первому кластеру. У сортов второго и третьего кластеров средний уровень морозостойкости по кластеру снизился вместе с продолжительностью дня при закаливании. Необходимо отметить, что обе линии, выделенные из сорта Одесская красноколосая, вошли в один — первый кластер, в котором преобладали генотипы с наибольшей длиной клеток и наименьшей плотностью устьиц и самым низким уровнем морозостойкости.

Выводы. Сорта изученного набора достоверно различались как по обоим стоматографическим признакам (длина замыкающих клеток и плотность расположения устьиц), так и по морозостойкости проростков при промораживании -12 и -13°C и закаливании в условиях удлиненного и укороченного дня. В условиях удлиненного дня повышение температуры промораживания до -12°C привело к уменьшению варьирования на 14,7 % ($CV = 32,7$ %) и достоверному ($t=4,25$; $t_{0,05} = 2,04$) увеличению на 30,4 % среднего уровня морозостойкости сортов в сравнении с таковым при -13°C ($CV = 47,4$ %). Сокращение на четыре часа продолжительности дня в период закаливания при промораживании -12°C способствовало уменьшению варьирования на 5,2 % ($CV=27,5$ %) и недостоверному снижению среднего уровня морозостойкости набора сортов на 8,7 %. Отметим наличие достоверных отрицательных корреляций между длиной замыкающих клеток и уровнем морозостойкости сортов при -12°C и закаливании в условиях укороченного и удлиненного дня ($r_s = -0,46 \pm 0,215$ и $-0,55 \pm 0,210$ соответственно), а также положительной связи плотности расположения устьиц с морозостойкостью при -12°C и закаливании в условиях укороченного дня ($r_s = 0,46 \pm 0,215$). По результатам кластер-

ного аналізу виділена група сортів (Одеська 16, Оренбурзька 48 і Тамбовська 12), в яких високий рівень морозостійкості асоційований з меншою довжиною замикаючих клітин і високою щільністю розташування устьць.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Casson S. A., Hetherington A. M. Environmental regulation of stomatal development // *Current Opinion in Plant Biology*. — 2010. — V. 13, № 1. — P. 90–95.
2. Limin A. E., Fowler D. B. Inheritance of cell size in wheat (*Triticum aestivum* L.) and its relationship to the vernalization loci // *Theoretical and Applied Genetics*. — 2001. — V. 103, № 2. — P. 277–281.
3. Ламарі Н. П., Файт В. І. Аналіз зв'язку між щільністю продихів та морозостійкістю м'якої пшениці // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Підвищення стійкості рослин до хвороб і екстремальних умов середовища в зв'язку із задачами селекції», Харків, 11–12 червня 2013 р. — Харків, 2013. — С. 97.
4. Ламарі Н. П., Файт В. І. Зв'язок стоматографічних ознак з морозостійкістю сортів та рекомбінантно-інбредних ліній м'якої озимої пшениці // Матеріали міжнародної наукової конференції «Селекція і генетика сільськогосподарських рослин: традиції і перспективи», Одеса, 17–19 жовтня 2012 г. — Одеса, 2012. — С. 266–267.
5. Baker S. S., Wilhem K. S. and Thomashow M. F. The 50-region of *Arabidopsis thaliana* cor15a has cis-acting elements that confer cold-, drought- and ABA-regulated gene expression // *Plant Mol. Biol.* — 1994. — V. 24. — P. 701–713.
6. Yamaguchi-Shinozaki K. and Shinozaki K. A novel cis-acting element in an *Arabidopsis thaliana* gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress // *Plant Cell*. — 1994. — V. 6. — P. 251–264.
7. Knight H., Veale E. L., Warren G. J. and Knight M. R. The *sfr6* mutation in *Arabidopsis* suppresses low-temperature induction of genes dependent on the CRT/DRE sequence motif // *Plant Cell*. — 1999. — V. 11. — P. 875–886.
8. Baker S. S., Wilhem K. S. and Thomashow M. F. The 50-region of *Arabidopsis thaliana* cor15a has cis-acting elements that confer cold-, drought- and ABA-regulated gene expression // *Plant Mol. Biol.* — 1994. — V. 24. — P. 701–713.
9. Jiang C., lu B. and Singh J. Requirement of a CCGAC cis-acting element for cold induction of the BN115 gene from winter *Brassica napus* // *Plant Mol. Biol.* — 1996 — V. 30. — P. 679–684.
10. Ouellet F., Vazquez-Tello A. and Sarhan F. The wheat wcs120 promoter is cold inducible in both monocotyledonous and dicotyledonous species // *FEBS Lett.* — 1998. — V. 423. — P. 324–328.
11. Shinwari Z. K., Nakashima K., Miura S., Kasuga M., Seki M., Yamaguchi-Shinozaki K. and Shinozaki K. An *Arabidopsis* gene family encoding DRE/CRT binding proteins involved in low — temperature-responsive gene expression // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1998. — V. 250. — P. 161–170.
12. Thomashow M. F. So what is new in the field of plant cold acclimation? Lots! // *Plant Physiol.* — 2001. — V. 125. — P. 89–93.
13. Badawi M., Reddy Y. V., Agharbaoui Z., Tominaga Y., Danyluk J., Sarhan F., Houde M. Structure and functional analysis of wheat ICE (Inducer of CBF Expression) genes // *Plant and Cell Physiology*. — 2008. — V. 49. — P. 1237–1249.

14. Chinnusamy V., Ohta, M., Kanrar, S., Lee, B. H., Hong, X., Agarwal, M. and Zhu, J. K. ICE1: A regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in Arabidopsis. *Genes Dev.* — 2003. — V. 17. — P. 1043–1054.
15. Kanaoka M. M., Pillitteri L. J., Fujii H., Yoshida Y., Bogenschutz N. L., Takabayashi J., Zhu J. K., Torii K. U. SCREAM/ICE1 and SCREAM2 specify three cell-state transitional steps leading to Arabidopsis stomatal differentiation // *Plant Cell.* — 2008. — V. 20. — P. 1775–1785.
16. Hofmann N. R. They All Scream for ICE1/SCRM2: Core Regulatory Units in Stomatal Development // *Plant Cell.* — 2008. — V. 20. — P. 1732.
17. Феоктістов П. О., Гаврилов С. В., Ляшок А. К., Григорюк І. П., Мельничук М. Д. Методологічні принципи оцінки озимої пшениці на терморезистентність в умовах Півдня України: Метод. рекомендації. — К.: Видавничий центр НАУ, 2006. — 36 с.
18. Лакин Г. Ф. Биометрия. — Москва: Высшая школа, 1990. — 352 с.
19. Абрамова Л. И., Орлова И. Н., Вишнякова М. А., Константинова Л. Н., Орел Л. И., Огородникова В. Ф. Цитологическая и цитозмбриологическая техника (для исследования культурных растений). — Л.: ВИР, 1982. — 119 с.
20. Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. — М.: Наука, 1984. — 424 с.
21. Лемешко Б. Ю., Лемешко С. Б. Сравнительный анализ критериев проверки отклонения распределения от нормального закона // *Метрология.* — 2005. — № 2. — С. 3–24.
22. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М.: Агропромиздат, 1985. — 343 с.
23. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — М.: Колос, 1973. — 327 с.
24. Ллойд Э., Ледерман У. Справочник по прикладной статистике. — М.: Финансы и статистика, 1989. — Т.1. — 510 с.
25. Файт В. І. Морозостійкість і урожайність окремих сортів озимої м'якої пшениці // *Вісник аграрної науки.* — 2005. — № 11. — С. 25–29.

Надійшла 6.11.2014.

UDC 633.11[575.167:576+581.821.1+58.036.5]

Lamari N. P., Fayt V. I, Naguliak O. I. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

RELATIONSHIP BETWEEN STOMATAL LEAF CHARACTERISTICS AND FROST RESISTANCE OF BREAD WHEAT GENOTYPES

The guard cells length and the stomata density are interdependent traits ($r_s = -0,67 \pm 0,176$) of plants adaptive response to abiotic stress. The study of relationship between stomatographic traits variation and frost resistance seedlings depending on the day length (12 and 16 hours) in the cold hardening period and freezing temperatures (-12 and -13 °C) in winter bread wheat cultivars was the purpose of this study. The largest variation ($CV = 47,4$ %) in the frost resistance identified under long-day conditions (16 hours) and

freezing temperature -13°C . Raise the freezing temperature to -12°C after the cold hardening of plants in the long day length conditions resulted in decrease variation by 14,7 % ($\text{CV} = 32,7\%$) and statistically significant ($t = 4,25$; $t_{0,05} = 2,04$) increase by up to 30,4 % average frost resistant varieties. Reduce of the day length duration of four hours in cold hardening period contributed to decrease variation by 5,2 % ($\text{CV} = 27,5\%$). The high level of frost resistance at -12°C in hardening under shortened day conditions significantly correlated with both higher stomata density and shorter guard cells ($r_s = 0,46 \pm 0,215$ and $-0,46 \pm 0,215$, respectively). According to the results of the cluster analysis allocated group varieties (Odesskaya 16, Orenburgskaya 48 and Tambovskaya 12) whose high frost resistance is associated with shorter guard cells and higher stomata density.

УДК 633.11[575.167:576+581.821.1+58.036.5]

Ламарі Н. П., Файт В. І., Нагуляк О. І.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК СТОМАТОГРАФІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛИСТА З МОРОЗОСТІЙКІСТЮ ГЕНОТИПІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ

Довжина замикаючих клітин і щільність розташування продихів є взаємозалежними ознаками ($r_s = -0,67 \pm 0,176$) адаптивної реакції рослин до абіотичних стресів. Метою даного дослідження було вивчення варіювання стоматографічних ознак і рівня морозостійкості залежно від тривалості дня (12 і 16 годин) в період загартування і температури проморожування (-12°C і -13°C) проростків сортів озимої пшениці. Найбільше варіювання ($\text{CV} = 47,4\%$) рівня морозостійкості виявлено при загартуванні рослин в умовах подовженого (16 годин) дня і температурі проморожування -13°C . Підвищення температури проморожування до -12°C та загартування рослин в умовах подовженого дня призвело до зменшення варіювання на 14,7 % ($\text{CV} = 32,7\%$) і достовірного ($t = 4,25$; $t_{0,05} = 2,04$) збільшення на 30,4 % середнього рівня морозостійкості сортів. Скорочення на чотири години тривалості дня в період загартування сприяло зменшенню варіювання на 5,2 % ($\text{CV} = 27,5\%$). Високий рівень морозостійкості при -12°C і загартуванні в умовах скороченого дня достовірно корелював з вищою щільністю продихів і меншою довжиною замикаючих клітин сортів ($r_s = 0,46 \pm 0,215$ і $-0,46 \pm 0,215$, відповідно). За результатами кластерного аналізу виділена група сортів (Одеська 16, Оренбурзька 48 і Тамбовська 12), у якій високий рівень морозостійкості був асоційований з меншою довжиною замикаючих клітин і високою щільністю розташування продихів.

УДК 576:606:631.1

М. С. БОЙКО, інж.,
І. І. МОЦНИЙ, к. б. н., ст. наук. співроб.,
О. Л. ШЕСТОПАЛ, к. б. н., ст. наук. співроб.
СГІ–НЦНС, Одеса
e-mail: karadras2@yandex.ru

АНДРОГЕНЕЗ *IN VITRO* У ЛІНІЙ І ПОПУЛЯЦІЙ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ З РІЗНИМИ СТРОКАМИ ДОСТИГАННЯ

Аналізували гаплопродукційну здатність сортів, ранньостиглих аналогів і гібридів пшениці м'якої озимої. Вивчали вплив генотипу та генофону на здатність мікроспор до андрогенезу in vitro. Виявлено, що генотип та генофон достовірно впливають на показник «індукція новоутворень». Залежності показника «регенерація зелених рослин» від генофону та генотипу не виявлено. В результаті проведення матеріалу через культуру пиляків in vitro отримані форми, що становлять інтерес для подальшого дослідження.

Ключові слова: пшениця м'яка озима, ранньостиглість, ген *Ppd-D1*, андрогенез *in vitro*.

Вступ. Пшениця м'яка озима — одна з найпоширеніших і найважливіших культур у сільськогосподарському виробництві України. Успіхи вітчизняної селекції з цієї культури багато в чому залежать від різноманіття сортів, що мають різні корисні ознаки. Створювати нові комбінації ознак — важливе завдання науковців. Результат досягається різними шляхами. Одним з біотехнологічних методів, що успішно застосовується у роботі з пшеницею, є отримання гомозиготного матеріалу на основі андрогенезу *in vitro*. Цей метод широко використовується, але багато питань досі потребують додаткового дослідження й обговорення. Зокрема, важливим завданням є вивчення особливостей процесу андрогенезу *in vitro* у м'якої пшениці залежно від наявності в генотипі рослини тих чи інших генів фотоперіодичної чутливості.

Ген *Ppd-D1* відповідає за реакцію рослин пшениці на фотоперіод. Його алель *Ppd-D1a* зумовлює фотоперіодичну нечутливість рослини, скорочуючи таким чином період до колосіння [1], що дає рослинам пшениці перевагу — можливість завершити період наливу зерна до настання високих температур і посухи [2]. Ранньостиглі сорти в посушливих умовах по суті встигають сформувати зерно до часу, коли даний процес уже неможливий через брак вологи.

Ще одна перевага ранньостиглих сортів пшениці — це їхня здатність уникати ураження при наростанні інфекційного навантаження. Ознаки

захворювання починають проявлятися у них тоді, коли процеси формування і наливу зерна в основному вже завершені, тому зниження фотосинтезуючої здатності листової та іншої поверхні рослини на цьому етапі не має вирішального значення. При цьому виграють показники якості зерна. Образно кажучи, ранньостиглі сорти «ухиляються» від хвороб [3]. Отже, ранньостиглість може, хоч і не прямо, а все ж позитивно впливати на продуктивність пшениці м'якої озимої, і створення ранньостиглих ліній такої культури за допомогою, зокрема, методу андрогенезу *in vitro* — актуальне завдання генетиків та селекціонерів.

Матеріали та методи. Досліджували три сорти пшениці м'якої озимої (Кооператорка, Одеська 3 і Степняк 1), три їхні ранньостиглі аналоги, в генотип яких вносився алель *Ppd-D1a* (табл. 1), а також три популяції F_1 — гібриди відповідних сортів і аналогів.

Таблиця 1

Схема схрещувань для внесення в генотип рослини алеля *Ppd-D1a* з метою створення ранньостиглого аналога

Генофон	Аналог*	Схема схрещування**
Кооператорка (К)	K_p	F_7 Кооператорка $\times$ Кооператорка К-90
Одеська 3 (Од.3)	$Од.3_p$	Одеська 3 $\times$ Одеська 3 К-75 self $\times$ Одеська 3 self ⁵
Степняк 1 (Ст. 1)	$Ст.1_p$	F_7 Степняк 1 $\times$ Степняк 2К

* K_p , $Од.3_p$, $Ст.1_p$ — ранньостиглі аналоги сортів Кооператорка, Одеська 3 і Степняк 1 відповідно.

** Кооператорка К-90, Одеська 3 К-75 та Степняк 2К — короткостеблові аналоги відповідних сортів, створені В. В. Хангільдіним [4].

Вивчали вплив генотипу рослини та генофону на здатність пиляків до андрогенезу *in vitro*. Підраховували кількість висаджених пиляків, кількість новоутворень та кількість зелених рослин-регенерантів. Здатність до гаплопродукції оцінювали, розраховуючи кількість новоутворень на 100 висаджених пиляків і кількість рослин-регенерантів на 100 отриманих новоутворень. Також для встановлення впливу названих вище факторів застосовували метод двофакторного дисперсійного аналізу в програмі Statistica.

Рослини вирощували в полі. Добирали колоски донорних рослин з пиляками, мікроспори яких знаходилися на вакуолізованій стадії розвитку. Попередньо обробляли матеріал і стерилізували його за загальноприйнятою методикою [5]. Ізольовані пиляки висаджували на середовище для індукції новоутворень — 190–2 [6] в модифікації [7]. Висаджені пиляки культивували 3 доби при температурі 30 °С, надалі — при 24 °С до появи новоутворень. Сформовані макроструктури культивували на модифікованому середовищі MS при 16-годинному фотоперіоді. Отримані зелені регенеранти пересаджували на безгормональне середовище MS і ривизували [5].

Результати та обговорення. На різних етапах андрогенезу *in vitro* вплив таких чинників, як генотип і генофон рослин, позначився по-різному (табл. 2).

Таблиця 2

Показники першого та другого етапів андрогенезу *in vitro*

Генотип	Кіль- кість пиляків	Новоутворення		Зелені регенеранти	
		шт.	шт./100 пиляків	шт.	шт./100 новоутво- рень
Кооператорка (К)	1380	6	0,43 ± 0,18	1	16,67 ± 15,21
F ₁ К × К _p	1247	8	0,64 ± 0,23	0	0 ± 9,05
К _p (аналог)	1004	11	1,10 ± 0,33	0	0 ± 7,12
Одеська 3 (Од.3)	1972	0	0 ± 0,05	0	–
F ₁ Од.3 × Од.3 _p	1366	11	0,81 ± 0,24	3	27,27 ± 13,43
Од.3 _p (аналог)	1553	8	0,52 ± 0,18	1	12,50 ± 12
Степняк 1 (Ст.1)	1858	24	1,29 ± 0,26	3	12,50 ± 6,75
F ₁ Ст.1 × Ст.1 _p	1801	31	1,72 ± 0,31	2	2 ± 3
Ст.1 _p (аналог)	1470	28	1,90 ± 0,36	2	7,14 ± 4,87

На першому етапі роботи (індукція новоутворень) відмінності між різними лініями і популяціями проявлялися чітко (рис. 1).

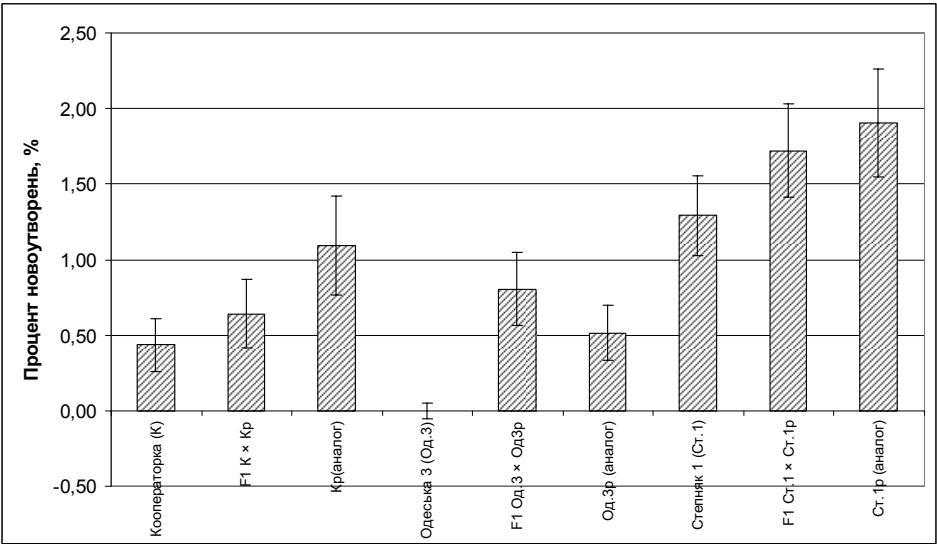


Рис. 1. Перший етап андрогенезу *in vitro* (індукція новоутворень на живильному середовищі 190–2) у досліджених сортів, аналогів та гібридів

Найвищі показники індукції новоутворень були отримані на пиляках рослин, створених на генофоні сорту Степняк 1. Відсоток новоутворень помітно перевищував показники всіх інших сортів, аналогів і гібридів за винятком аналога сорту Кооператорка.

Також можна помітити, що для сортів Кооператорка, Одеська 3 і Степняк 1, які містять алель *Ppd-D1b*, відсоток новоутворень достовірно нижчий, ніж для відповідних аналогів, що імовірно містили алель *Ppd-D1a*. Гібриди, які теоретично містили комбінацію цих алелів, за індукцією новоутворень займали проміжне положення між батьківськими формами.

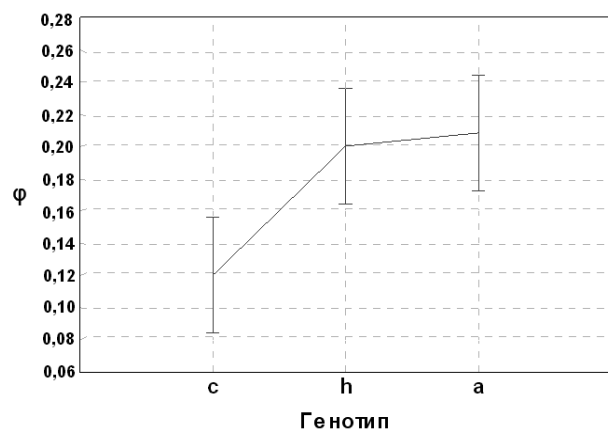


Рис. 2. Вплив генотипу на кількість новоутворень (с — сорти, h — гібриди, а — аналоги). Середнє значення $\pm$ 95 % довірчий інтервал

У всіх випадках відсоток новоутворень у гібридів перевищував даний показник у сортів, але був дещо нижчий, ніж у аналогів. Отже, можна припустити, що при внесенні в генотип рослини алеля *Ppd-D1a* відсоток новоутворень підвищується.

Цікавило і таке питання: чи підтвердиться вплив генофону і генотипу рослини на кількість новоутворень за допомогою двофакторного дисперсій-

ного аналізу. Підраховували відсотки новоутворень, після чого переводили їх у радіани (табл.3) із застосуванням кутового перетворення Фішера [8]. Було встановлено, що генофон (рис. 2) і генотип (рис. 3) достовірно впливають на індукцію. Аналоги та гібриди перевищують сорти за даним показником. З генофонів найбільш продуктивним виявився Степняк 1, дещо слабкішим — Кооператорка і найменш продуктивним — Одеська 3.

Вплив генотипу та генофону на кількість зелених регенерантів не був підтверджений. Можливо, це пов'язано з незначним відсотком виходу таких рослин (рис. 4).

Зелені рослини були отримані не для всіх форм. Так, із новоутворень аналога сорту Кооператорка, гібрида на генофоні сорту Кооператорка і сорту Одеська 3 регенеранти не сформувались. Найбільш значний відсоток

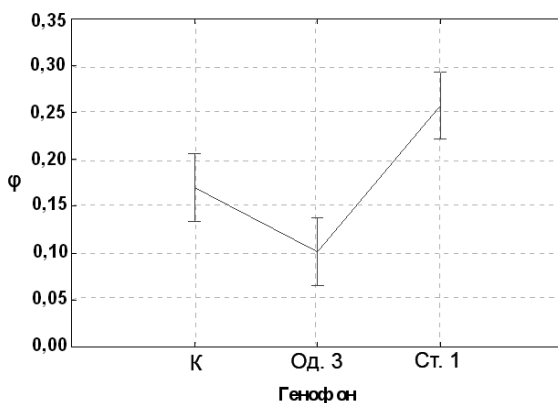


Рис. 3. Вплив генофону на кількість новоутворень (К — Кооператорка, Од. 3 — Одеська 3, Ст. 1 — Степняк 1).

Середнє значення $\pm$ 95 % довірчий інтервал

Таблиця 3

Вплив генотипу і генофону на кількість новоутворень у культурі пиляків *in vitro*.
Результати двофакторного дисперсійного аналізу

Джерело варіації	df (ступінь свободи)	SS (сума квадратів)	MS (середній квадрат)	F (від- ношення (критерій) Фішера)	p (рівень значи- мості для об- численого F)
Генотип	2	0,028478	0,014239	9,4599*	0,006130
Генофон	2	0,073545	0,036772	24,4299*	0,000231
Взаємодія генотип × генофон	4	0,012213	0,003053	2,0285	0,173799
Помилка	9	0,013547	0,001505		
Всього	17	0,127783			

* — вплив чинника достовірний.

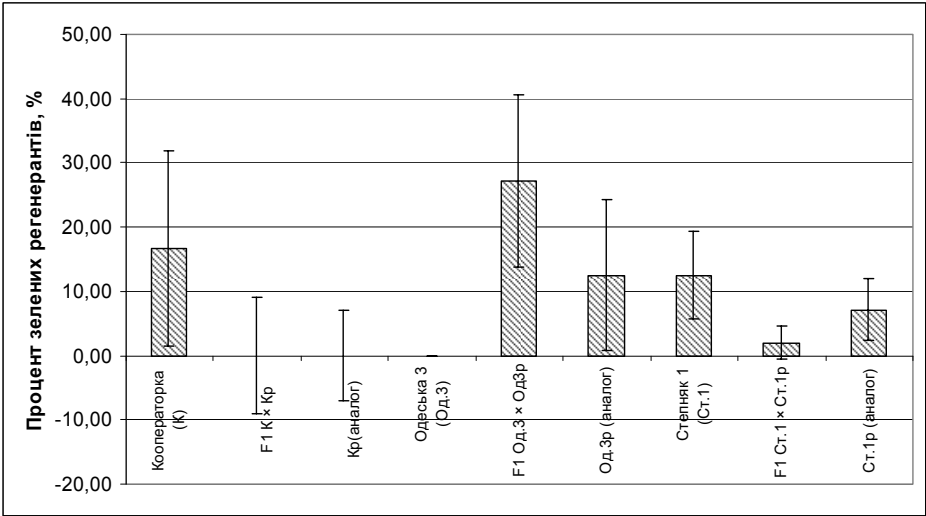


Рис. 4. Другий етап андрогенезу *in vitro* (одержання зелених рослин-регенерантів) у досліджених сортів, аналогів та гібридів

останніх був отриманий у гібрида на генофоні сорту Одеська 3. Проте помилка даного значення виявилась занадто великою, щоб назвати цю тенденцію чітко вираженою. В цілому, беручи до уваги також результати дисперсійного аналізу (оскільки достовірних відмінностей виявлено не було, дані не наводяться), можна зробити висновок, що чіткої залежності між генотипом та генофоном і кількістю рослин-регенерантів нема.

Отже, наявність у генотипі рослини алелів раннестиглості позитивно впливає на кількість новоутворень на першому етапі андрогенезу *in vitro*, але не сприяє подальшій регенерації.

В цілому отримані дані, в усякому разі стосовно рекурентних форм, співпадають з попередніми дослідженнями [9]. В обох випадках показ-

ник «індукція новоутворень» був найвищий у сорту Степняк 1 і дещо нижчий у Кооператорки; у сорту Одеська 3 новоутворень не отримано. Однак за показником «регенерація зелених рослин» відповідність не повна — у попередніх дослідженнях у сорту Кооператорка не було отримано зелених регенерантів, на відміну від чинного дослідження (отримано 0,07 % зелених регенерантів від кількості пиляків).

Висновки. 1. Ранньостиглі аналоги сортів Кооператорка, Одеська 3 і Степняк 1, які імовірно включають алель *Ppd-D1a*, перевершують відповідні сорти за кількістю новоутворень. Гібриди за цим показником займають проміжне положення між батьківськими формами. Найбільший відсоток новоутворень відзначено у генотипів, створених на генофоні сорту Степняк.

2. Генофон та генотип пшениці м'якої озимої (мається на увазі поділ на сорти, аналоги та гібриди) достовірно впливають на показник «кількість новоутворень», хоча такого впливу на показник «кількість зелених рослин-регенерантів» не виявлено.

3. У зв'язку з отриманими результатами доцільно провести точну ідентифікацію наявності алеля *Ppd-D1a* у вивчених лініях-аналогах методом ПЛР.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Чеботар Г. О., Чеботар С. В., Моцний І. І., Сиволап Ю. М. Уточнення ступеня зчеплення генів Rht8 та Ppd-D1 на хромосомі 2D озимої м'якої пшениці // Цитология и генетика. — 2013. — 47, № 2. — С. 12–17.
2. Чеботар Г. О., Моцний І. І., Чеботар С. В., Сиволап Ю. М. Вплив алелів короткостебловості та гена Ppd-D1 на агрономічні ознаки м'якої пшениці // Збірник наукових праць Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення. — Одеса: СГІ–НЦНС, 2010. — С. 142–154.
3. Лихенко И. Е. Проблемы сортового разнообразия в современном растениеводстве (обзор) / И. Е. Лихенко // Зерновое хозяйство России. — 2010. — № 3. — С. 71–75.
4. Хангильдин В. В. Создание аналогов старых селекционных сортов как метод консервации генов адаптивности для использования в селекции // Мат. II совещания «Изогенные линии и генетические коллекции». — Новосибирск: ИЦИГ СО РАН, 1993. — 194 с.
5. Ігнатова С. О., Жосонар М. В., Шестопап О. Л. та інш. Отримання подвоєних гаплоїдів м'якої пшениці в культурі пиляків. Методичні рекомендації / Півден. біотехнолог. центр в рослин-ві УААН. — Одеса, 2008. — С. 12.
6. Zhuang J. J., Xu J. Increasing differentiation frequencies in wheat pollen callus // Cell and tissue culture techniques for cereal crop improvement. — 1983. — Science Press. — Beijing. — P. 431.
7. Лобанова К. І., Жосонар М. В., Ігнатова С. О. Шляхи реалізації регенераційного потенціалу в культурі пиляків у різних генотипів озимої м'якої пшениці // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. — 2006. — Т. 4, № 1. — С. 52–57.

8. Лакин Г. Ф. Биометрия. — Москва: Высшая школа, 1973. — 343 с.
9. Замбриборщ И. С., Доброва А. А., Лобанова Е. И., Мощный И. И., Бойко М. С., Чеботарь Г. А. Отзывчивость линий гексаплоидной пшеницы с *Rht* генами к андрогенезу и влияние условий получения удвоенных гаплоидов на полевые характеристики регенерантов // Международная науч. конфер. «Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры». — Минск, 2012. — Ч. 2. — С. 303–307.

Надійшла 8.12.2014.

UDC 576:606:631.1

Boyko M. S., Motsnyi I. I., Shestopal O. L. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

IN VITRO ANDROGENESIS IN WINTER BREAD WHEAT LINES AND POPULATIONS OF VARIOUS RIPENING

The androgenesis *in vitro* ability of three soft winter wheat varieties, their early ripening analogues and the proper varieties' and analogues' hybrids was compared. The effect of genotype and genetics background was examined for the ability to androgenesis *in vitro*. At the first stage of work the most high percent of tumors was obtained for the lines and the hybrid population which were created on Stepniak 1 genetics background: 1,29; 1,72 and 1,90 %, respectively. It was proved by two-factor analysis of variance that the genotypes of the varieties' analogues significantly exceed the varieties by the index '»induction of tumors». Dependence of «green plants regeneration» index on the genetics background and genotype factors was not found. The forms interesting for further research were obtained as a result of conduction the material through *in vitro* anther culture.

УДК 576:606:631.1

Бойко М. С., Мощный И. И., Шестопал О. Л.

АНДРОГЕНЕЗ *IN VITRO* У ЛИНИЙ И ПОПУЛЯЦИЙ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ С РАЗНЫМИ СРОКАМИ СОЗРЕВАНИЯ

Сравнивали способность к андрогенезу *in vitro* трех сортов пшеницы мягкой озимой, их раннеспелых аналогов и гибридов соответствующих сортов и аналогов. Рассматривали влияние генотипа и генофона на способность к андрогенезу *in vitro*. На первом этапе работы наиболее высокий процент новообразований был получен для линий и гибридной популяции, созданных на генофоне сорта Степняк 1: 1,29; 1,72 и 1,90 %

для сорта, гибрида и аналога соответственно. С помощью двухфакторного дисперсионного анализа доказано, что генотипы аналогов сортов достоверно превышают сорта по показателю «индукция новообразований». Зависимости показателя «регенерация зеленых растений» от таких факторов, как генофон и генотип, не обнаружено. В результате проведения материала через культуру пыльников *in vitro* получены формы, интересные для дальнейшего исследования.

УДК 575.113.2:633.16:663.421

С. С. ПОЛІЩУК, мол. наук. співроб.,
СГІ–НЦНС, Одеса,
Б. В. МОРГУН, к. б. н., зав. від.,
Ін-т клітинної біології і генетичної інженерії НАН України,
О. І. РИБАЛКА, д. б. н., зав. від., СГІ–НЦНС, Одеса
e-mail: alex.rybalka@mail.ru

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ *Bmy1*, *LOX-1* та *Wax* ЯК ДЕТЕРМІНАНТІВ ОЗНАК ХАРЧОВОЇ ЦІННОСТІ ЗЕРНА ЯЧМЕНЮ

*Досліджено алельний стан генів **Bmy1**, **LOX-1** та **Wax**, що контролюють активність кількох ключових ферментів та визначають важливі характеристики харчової цінності зерна ячменю. Серед дослідженого колекційного матеріалу вітчизняних сортів ячменю не знайдено жодного алельного варіанта цих генів, які сьогодні активно використовуються у світовій селекції сортів ячменю, спеціалізованих за напрямками харчового використання зерна.*

Ключові слова: молекулярно-генетичний аналіз, ячмінь, гени, β-амілаза, ліпоксигеназа, ваксі, харчова цінність зерна.

Вступ. До харчових продуктів, що виготовляються із зерна ячменю, належить цілий ряд найменувань, таких як крупи, пластівці, чимало сортів хліба, різні зброджені напої, пиво, віскі тощо. Харчова якість цих продуктів детермінується комплексом генів, що експресуються в зерні ячменю та контролюють реакції синтезу або розпаду компонентів зерна у процесі його технологічної переробки. З-поміж численних генів, що відіграють важливу роль у визначенні харчової якості продуктів переробки зерна, у роботі акцентується увага на трьох із них: **Bmy1**, **LOX** та **Wax**.

Bmy1 – один з найважливіших генів, який контролює біосинтез критично важливого для етапу осолоджування і зброджування ячмінного сусла ферменту β-амілази при виготовленні пива, віскі та інших подібних напоїв із зерна ячменю. Гідролітична активність та термостабільність β-амілази визначається алельним станом III інтрону гена *B₁* у довгому плечі четвертої хромосоми ячменю. III інтрон гена *Bmy1* є поліморфним — знайдено три алелі: *Bmy1.a*, *Bmy1.b* та *Bmy1.c*, кожен з яких експресується у фермент з різним рівнем активності та термостабільності β-амілази у солоді [1].

Так, значення активності β-амілази у зерні сортів ячменю з алелем *Bmy1.b* було вищим відповідного показника у сортів з алелем *Bmy1.a* у 1,3 раза; значення активності ферменту в зерні єдиного сорту алелю *Bmy1.c* виявилось у 2,1 раза вищим за цей показник у сортів з алелем

Bmy1.a [2]. Залишкова активність β -амілази як показник термостабільності ферменту у сортів ячменю з алелями *Bmy1.a*, *Bmy1.b* та *Bmy1.c* була на рівні 3,6, 26,4 та 58,7 % відповідно [3].

LOX-1 — кодує біосинтез ферменту зерна ячменю ліпоксигенази, локалізований у четвертій хромосомі, і каталізує утворення 9-гідроперекису, що призводить до виникнення сполук, які псують смакові властивості зброджених напоїв, особливо пива: транс-2-ноненаль та тригідроксиоктодецилова кислота. Транс-2-ноненаль вважається основною причиною так званого «картонного смаку» пива, що знаходилося тривалий час у контакті з повітрям. Інший продукт окислення — 3-гідроксиоктодецилова кислота — негативно впливає на якість пива у термінах стабільності піни та смакових характеристик напою [4].

Wax — ген, що кодує біосинтез ключового ферменту біосинтезу амілози крохмалю зерна ячменю. Має назву Wx-протеїн, або асоційована з гранулами крохмалю синтаза крохмалю GBSS I (*Granule Bound Starch Synthase I*, GenBank accession number: P09842) з молекулярною масою близько 60 кДа. У ячменю активність ферменту GBSS I та відповідно прояв ознаки ваксі контролює ген *Wax*, що локалізований на короткому плечі хромосоми 7Н. Рецесивний алель цього гена практично повністю блокує біосинтез амілози крохмалю, і її кількісний вміст у крохмалі змінюється від норми 20–25 до 0–5 %. Серед світового сортименту ячменю виявлено 2 функціональні алелі гена *Wax* та один нуль-алель або алель **wax** [6].

Зерно ячменю з алелем *wax* у порівнянні зі звичайним ячменем містить на 32–41 % більше некрохмалистих полісахаридів β -глюканів. Крім того, зерно ячменю *wax* має у середньому на 25 % вищий вміст ліпідів, ніж зерно звичайного ячменю. У деяких мутантних формах голозерного ячменю, створених нещодавно в Канаді, знайдено до 15–16 % β -глюканів. β -глюкани є фактором підвищеної харчової цінності зерна ячменю, сприяють зниженню шкідливого холестерину у плазмі крові людини, знижують гліцемічний індекс продуктів із зерна ячменю і мають загалом високу дієтичну цінність [7].

Результати дослідження алельного стану вищезгаданих генів серед колекції сортів і селекційних ліній ячменю різного походження викладені у цій статті.

Матеріал і методи. Дослідження виконувалися з використанням 126 сортів і ліній ячменю вітчизняної та зарубіжної селекції, селекційних ліній ячменю з колекції відділу генетичних основ селекції СГІ. Лабораторні тести виконувалися на базі Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України (м. Київ).

Молекулярно-генетичний аналіз алельного поліморфізму генів *Bmy1* та *LOX-1* виконували з використанням загальної ДНК, виділеної з проростків за загальноприйнятою методикою, застосовуючи ЦТАБ-буфер [4]. Детекцію алелів генів *Bmy1* та *LOX-1* здійснювали за допомогою ПЛР з використанням специфічних праймерів (табл. 1).

Таблиця 1

Послідовності алель-специфічних праймерів, застосовані у роботі

Назва	Послідовність праймера, 5' → 3'	Очікуваний фрагмент, п. н.	Цільовий ген	Цитоване джерело
b-amy1F	GATGGTCGTTCCCAGGCATC	477 (<i>Bmy1.c</i>), 516 (<i>Bmy1.b</i>), 643 (<i>Bmy1.a</i>)	III інтрон гена <i>Bmy1</i>	Kihara et al., 1998 [8]
b-amy1R	AGGGAACCGCACGTGTGGG GTCAATGA			
LOX-1 F	CCATCACGCAGGGCATCCTG	після рестрикції ендонуклеазою <i>RsaI</i> : 700+300+ + 220 (<i>LoxA</i>); 700 + 520 (<i>loxA</i>)	<i>LOX-1</i>	Hirota et al., 2005 [4]
LOX-1 R	GCGTTGATGAGCGTCTGCCG			

ПЛР на ген *LOX-1* проводилася за принципом низхідної ПЛР (Touchdown PCR) за наступних умов: денатурація — 4 хв при 94 °C; далі 5 циклів (30 с — 94 °C; 30 с — 70 °C; 41 с — 72 °C); 30 циклів (30 с — 94 °C; 30 с — 65 °C; 41 с — 72 °C); 5 хв при 72 °C; 2 хв — 22 °C.

ПЛР проводилася в термоциклері (Thermo Scientific Arktik Thermal Cycler). При визначенні алелів гена *Bmy1* та *LOX-1* у склад реакційної суміші, що містила 20 мкл, входили: 30 мкмоль ДНК, 0,75 од. Taq полімерази (DreamTaq Polymerase — Thermo Scientific), 0,5 мкмоль кожного праймера.

Умови ПЛР для детекції гена *Bmy1*: денатурація — 4 хв при 94 °C; далі 34 цикли (30 с — 94 °C; 30 с — 57 °C; 41 с — 72 °C); 5 хв при 72 °C; 2 хв — 22 °C.

Рестрикційний аналіз алельного стану гена *LOX-1* проводили у загальному об'ємі 30 мкл, який містив 10 мкл продуктів ПЛР, 2 мкл 10× буферу Tango (Thermo Scientific), 4 од. активності ендонуклеази *RsaI*. Реакцію інкубували при температурі 37±1 °C протягом 1,5 години. Продукти рестрикції розділяли в 1,2 % агарозному гелі, документували цифровим фотоапаратом Canon EOS 600D та обробляли зображення програмами GIMP та MS Office PowerPoint.

Виділення загальної ДНК для аналізу *Wax* алелів виконували ЦТАБ методом з модифікаціями із замороженої зеленої маси та зерна. Якість та концентрацію виділеної загальної ДНК визначали спектрофотометрично на приладі BioPhotometer (Eppendorf) v. 1.35. Полімеразна ланцюгова реакція з використанням нисхідної процедури (Touchdown) на ген *Wax* ячменю проводилася з праймерами, запропонованими [6] на ампліфікаторі Thermo Scientific Arctic. Кожна реакція містила 30 нг загальної рослинної ДНК, а для ампліфікації використовувалася 0,5 од. DreamTaq™ полімерази (Thermo Scientific).

Умови реакції: початкова денатурація при 94 °C — 3 хв; 8 циклів — денатурація при 94 °C — 30 с; при температурі, вищій за температуру відпалу праймерів — 62 °C — 30 с і з кожним циклом температура зменшується на 1 °C і елонгація при 72 °C — 1 хв 10 с та ще 28 циклів — денатурація при

94 °C — 30 с; при температурі відпалу праймерів — 54 °C — 30 с; елонгація при 72 °C — 1 хв 10 с та 5 хв фінальна елонгація. Продукти ампліфікації візуалізували в ультрафіолетовому світлі після їх електрофоретичного розділення у 1,2 %-му агарозному гелі натрій боратному буфері з 0,5 мг/мл бромистого етидію. При наявності функціональних алелів дикого типу очікуються амплікони розміром 802 п. н. чи 1010 п. н. Амплікон розміром 592 п. н. вказує на присутність нуль-алеля за даним геном і відповідно модифікований склад крохмалю. У випадку гетерогенності досліджуваного зразка спостерігали наявність ампліконів кількох типів.

Результати і їх обговорення. Для виконання молекулярно-генетичного аналізу сортів ячменю з метою ідентифікації алельного стану генів *Bmy1* (рис. 1) та *LOX-1* (рис. 2) були підібрані параметри проведення ПЛР із застосуванням градієнта температур відпалу праймерів та використанням раніше опублікованої інформації з джерел літератури.

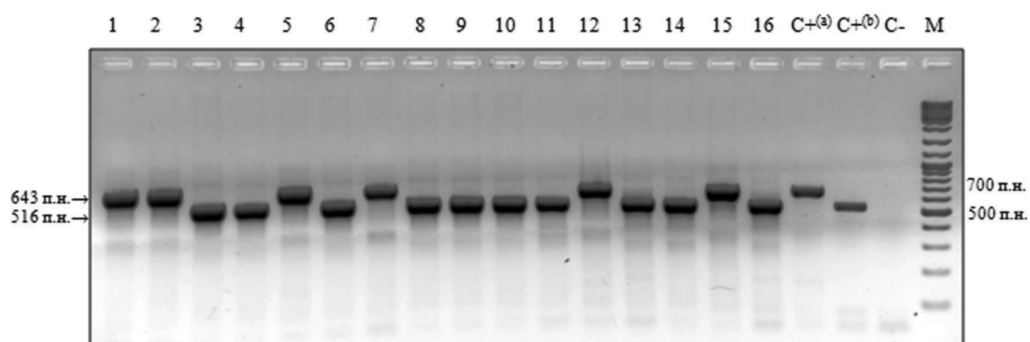


Рис. 1. Електрофореграма тесту на виявлення алелів *Bmy1.a* (643 п. н.) та *Bmy1.b* (516 п. н.) гена *Bmy1*. Доріжка 1 — сорт Henley, 2 — Ілот, 3 — Daura, 4 — Kangoo, 5 — Bellona, 6 — Malz, 7 — Kristalia, 8 — Marthe, 9 — Козван, 10 — Bojos, 11 — Annabell, 12 — Henrike, 13 — Jennifer, 14 — Quench, 15 — KWS Alicia, 16 — Святогор. Позитивні контролю: C^{+(a)} — алель *Bmy1.a* сорту Ітіль, C^{+(b)} — алель *Bmy1.b* сорту Зоряний. М — маркер молекулярних мас GeneRuler™ DNA Ladder Mix. C- — негативний контроль, буфер TE

На електрофореграмі (рис. 1) спостерігали розподіл досліджуваних зразків ячменю на дві групи залежно від алельного стану гена *Bmy1*: для сортів з алелем *Bmy1.a* характерна поява амплікону розміром 643 п. н., в той час як сортам з алелем *Bmy1.b* властивий амплікон довжиною 516 п. н. Порівнюючи результати електрофорезу 16 зразків із маркером молекулярних мас (зразок «М», рис. 1) та із позитивним контролем (зразки C^{+(a)} та C^{+(b)}, рис. 1), було встановлено алельний стан гена *Bmy1* для 16 зразків, що представлені в описі до електрофореграми. У представленому досліді виявилось, що 6 сортів ячменю (Henley, Ілот, Bellona, Kristalia, Henrike та KWS Alicia) містять алель *Bmy1.a* гена *Bmy1*. У геномі інших 10 сортів (Daura, Kangoo, Malz, Marthe, Козван, Bojos, Annabell, Jennifer, Quench та Святогор) ген *Bmy1* був представлений алелем *Bmy1.b*. Отже,

можна стверджувати, що 10 сортів із алелем *Bmy1.b* мають перспективу використання для виготовлення зброджених напоїв із зерна ячменю та у пивоварінні.

Описаним шляхом був проведений аналіз усієї колекції ячменю.

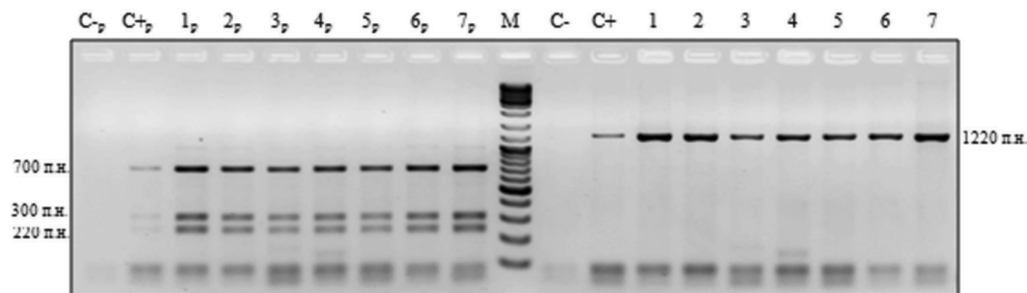


Рис. 2. Електрофореграма аналізу виявлення алелів *Lox A* (700+300+220 п. н.) та *lox A* (700+520 п. н.) гена *LOX-1* з використанням ендонуклеази *RsaI* (зразки з індексом «р» — після обробки рестриктазою) у сортів: доріжка 1 — KWS Aliciana, 2 — Quench, 3 — Jennifer, 4 — Henrike, 5 — Annabell, 6 — Bojos, 7 — Козван. Позитивний контроль (C+) — алель *Lox A* сорту CDC Kendall [9]. М — маркер молекулярних мас GeneRuler™ DNA Ladder Mix. C- — негативний контроль, буфер TE

Приклад аналізу алельного стану гена *LOX-1* сортів ячменю представлено на рисунку 2. На електрофореграмі показано продукти ампліфікації ПЛР на праймери *Lox-1 F* та *Lox-1 R* (зразки № 1–7 та C+, рис. 2), а також результати подальшої рестрикції ендонуклеазою *RsaI* (зразки № 1р–7р та C+_p, рис. 2). Аналіз показав, що всі досліджувані сорти (KWS Aliciana, Quench, Jennifer, Henrike, Annabell, Bojos, Козван) мали домінантний алель *Lox-A*. Отже, на жаль, пивоварна якість зазначених зразків ячменю не може бути задовільною у зв'язку з наявністю у них активного алеля для ліпоксигенази-1. Подібним чином було виконано дослідження з визначення алельного стану гена *LOX-1* для всіх інших сортів колекції.

У таблиці 2 наведено результати аналізу алельного поліморфізму гена *Bmy1* серед колекції сортів ячменю. Подано назву сорту, його походження, алельний стан гена *Bmy1*, очікувана термостабільність та якість зерна сорту за Державним реєстром сортів рослин, придатних для поширення в Україні в 2013 році [9].

За результатами аналізу було визначено алельний стан гена *Bmy1* для 103 зразків ДНК, виділених із колекції вітчизняних та зарубіжних сортів ячменю і селекційних ліній. У досліджуваній колекції представлено 32 зарубіжні сорти ячменю (31 % колекції) та 71 вітчизняних сортів і ліній (69 % колекції).

За даними дослідів виявилось, що 63 сорти ячменю (61 % загальної кількості) мали алель *Bmy1.b*, 33 (32 % колекції) мали алель *Bmy1.a*, а сім сортів (7 % загальної кількості рослин) були гетерогенними за алельним станом гена *Bmy1*. Сортів ячменю з найактивнішим алелем *Bmy1.c* у колекції, на жаль, не виявлено.

Таблиця 2

Розподіл сортів та селекційних ліній ячменю за алелями гена *Bmy1*

Сорт, селекційна лінія	Країна походження	Фрагмент 126 п. н.	Фрагмент 39 п. н.	Алель	Термостабільність	Якість
Annabell	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Barke	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Beatrix	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Bellona	Німеччина	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	пивоварний
Bojos	Чехія	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	пивоварний
CDC Alamo	Канада	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	кормовий
CDC Candle	Канада	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	кормовий
CDC Gainer	Канада	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	н/в*
CDC McGwire	Канада	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Claire	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Kristalia	ВБ**	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Danuta	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Datcha	Франція	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Daura	н/в	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	н/в
Ebson	Чехія	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Gladys	Нідерланди	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Golden Promise	США	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	н/в
Golden Promise (л. тр.*** 2 x5)	США	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	н/в
Golden Promise (л. тр. 3 y10)	США	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	н/в
Golden Promise (л. тр. 4 x5+y10)	США	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	н/в
Henley	Австралія	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	н/в
Henrike	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>trifurcatum</i>	Монголія	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	н/в
JB Maltasia	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Jennifer	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Jersey	Нідерланди	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Kangoo	Нідерланди	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
KWS Alicia	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
KWS Bambina	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Ksanadu	Німеччина	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	пивоварний
Malz	Чехія	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Marthe	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	фуражний
Philadelphia	США	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Quench	ВБ**	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Rosalina	Данія	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Scarlett	Чехія	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Shakira	Німеччина	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Адапт	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	фуражний

Продовження табл. 2

Сорт, селекційна лінія	Країна походження	Фрагмент 126 п. н.	Фрагмент 39 п. н.	Алель	Термостабільність	Якість
Ахіллес	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	кормовий
Вакула	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Вестнік	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	кормовий
Водограй	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Воевода	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	пивоварний
Всесвіт	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Галактик	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Галатея	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	кормовий
Галичанин	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Гамбрінус	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Геліос	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Гетьман	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	пивоварний
Дерибас	Україна	+	+	гетеро	низька	пивоварний
Дружба	Україна	+	+	гетеро	низька	пивоварний
Едем	Україна	+	+	гетеро	низька	пивоварний
Еней	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Зоряний	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Ілот	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	фуражний
Ітіль	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	кормовий
Казковий	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Козван	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Козацький	Україна	+	+	гетеро	низька	фуражний
Командор	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	пивоварний
Лука	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	фуражний
Медікум 46	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	н/в
Модерн	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Незалежний	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	н/в
Нутанс 106	Україна	+	+	гетеро	низька	пивоварний
Нутанс 244	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Нутанс 518	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	пивоварний
Нутанс 778	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	пивоварний
Оболонь	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Одеський 9	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Одеський 14	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	н/в
Одеський 18	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	н/в
Одеський 36	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	кормовий
Одеський 69	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	кормовий
Одеський 70	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	кормовий
Одеський 100	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Одеський 111	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Одеський 115	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Одеський 131	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	фуражний
Одеський 151	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Одеський 518	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	н/в

Закінчення табл. 2

Сорт, селекційна лінія	Країна походження	Фрагмент 126 п. н.	Фрагмент 39 п. н.	Алель	Термостабільність	Якість
Паллідум 32	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Паллідум 103	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Первенець	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	кормовий
Переможний	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	н/в
Південний	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Прерія	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Престиж	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	кормовий
Романтик	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Рось	Україна	+	+	гетеро	низька	пивоварний
Святогор	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	пивоварний
Селеніт	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Славутич	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Сталкер	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	фуражний
Степовий	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Тайфун	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	фуражний
Хадар	Україна	+	+	<i>Bmy1.a</i>	низька	фуражний
Чарівний	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Чорноморець	Україна	+	+	гетеро	низька	кормовий
Чудовий	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний
Южний	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	кормовий
Юкатан	Україна	–	+	<i>Bmy1.b</i>	середня	пивоварний

Примітки: *н/в — немає відомостей; **ВБ — Великобританія; «гетеро» — гетерогенний, тобто присутні обидва алелі, що вказує на генетичну строкатість сорту; ***л. тр. — лінія трансформована.

Якщо брати до уваги розподіл зразків ячменю за територіальною ознакою, то виявиться, що із досліджуваних 71 вітчизняних зразків колекції ячменю 37 сортів (52 % колекції) мають алель *Bmy1.b*, 27 (38 %) — алель *Bmy1.a*, 7 сортів (10 %) мають обидва алелі. Серед зарубіжних сортів, кількість яких складає 32 зразки, 26 (81 %), мали алельний стан *Bmy1.b* і лише 6 сортів (18 %) — алель *Bmy1.a*. Такий розподіл алелів свідчить про багатше різноманіття алелів гена *Bmy1*, яке притаманне ячменям зарубіжної селекції. Це означає, що подальший пошук перспективних для процесу ферментації алелів гена *Bmy1* доцільно проводити серед сортів закордонної селекції залученням мутаційної селекції та дикорослих донорів.

Дослідження алельного стану гена *LOX-1* показало його повний мноморфізм серед вивченої колекції 103 зразків ячменю. Зразків з алелем *loxA* не виявлено. Всі досліджені зразки ячменю мають активну ліпоксигеназу-1, пов'язану з зіпсованим смаком пива.

Аналіз рослинного матеріалу для визначення алельного стану гена *Wax* проводили за допомогою специфічного молекулярного маркера.

Дана система детекції алельного стану гена дозволяє визначати як гомозиготні (гомогенні), так і гетерозиготні (гетерогенні) зразки, тобто є кодомінантною. Результати типових ампліфікацій наведені на рисунках 3 та 4.

Зразки 1–11, 13–15 містять амплікони розміром 802 п. н., 1010 п. н. чи й обидва, що свідчить про наявність алеля дикого типу.

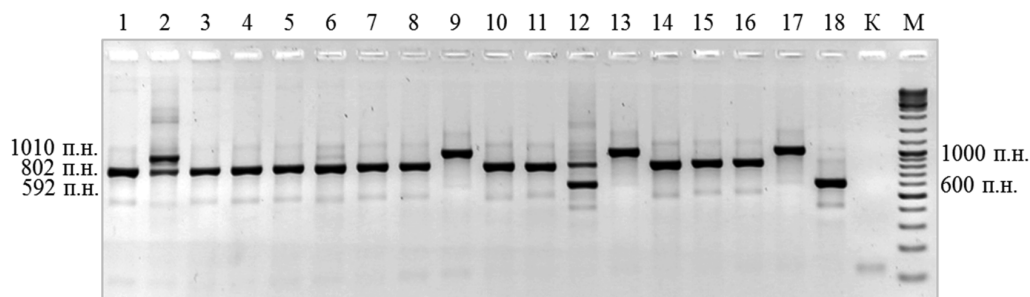


Рис. 3. Електрофореграма продуктів полімеразної ланцюгової реакції на ген *Wax* ячменю. Розмір фрагментів маркера вказано праворуч. Доріжка 1 — сорт Одеський 36; 2 — Чорноморець; 3 — Нутанс 106; 4 — Славутич; 5 — Одеський 69; 6 — Одеський 70; 7 — KWS Bambina; 8 — Beatrise; 9 — Datcha; 10 — Golden Promise; 11 — Ksanadu; 12 — Alamo; 13 — Еней; 14 — лінія Golden Promise Trp2 (x5); 15 — Хадар; 16 — контрольний сорт Rosalina, який несе алель 802 п. н.; 17 — контрольний сорт Danuta, який несе алель 1010 п. н.; 18 — контрольний сорт Candle, який несе нуль-алель 592 п. н.; К — негативний контроль, ТЕ буфер; М — маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA Ladder Mix

Зразок 12 є гетерогенний, оскільки містить як алель дикого типу, так і нуль-алель. Для контролю наявності алелів дикого типу використовували сорти Rosalina, який несе алель 802 п.н (доріжка 16), та Danuta, який несе алель 1010 п. н. (доріжка 17), і нуль-алель — сорт Candle (доріжка 18), характеристики яких відомі з літератури. В якості негативного контролю ПЛР реакції використовували реакційну суміш, до якої замість загальної ДНК додавали розчинник, ТЕ буфер.

Зразки ячменю (рис. 4) 1–5, 7–15 містять амплікони розміром 802 п. н. або 1010 п. н., що свідчить про наявність алелів дикого типу. Зразок 6 (канадський комерційний сорт ячменю ваксі Alamo) має амплікон розміром 592 п. н., що свідчить про наявність нуль-алеля гена *Wax*. Цей сорт використовується нами у схрещуваннях як донор рецесивного алеля гена *Wax* і відповідно ознаки ваксі. Результати дослідження алельного стану гена *Wax* зразків колекції наведено в таблиці 3.

У рамках дослідження було опрацьовано 126 зразків ячменю і виявлено всі три алельні варіанти гена *Wax*. Було виявлено 8 гетерогенних зразків, з яких 7 містять амплікони двох типів 802 та 1010 п. н., та зразок сорту Alamo, який несе нуль-алель (амплікон 592 п. н.) разом із функціональним алелем (амплікон 802 п. н.).

Загалом серед гомогенних зразків виявлено 91 такий, що має функціональний алель, який вирізняється розміром амплікону в 802 п. н.;

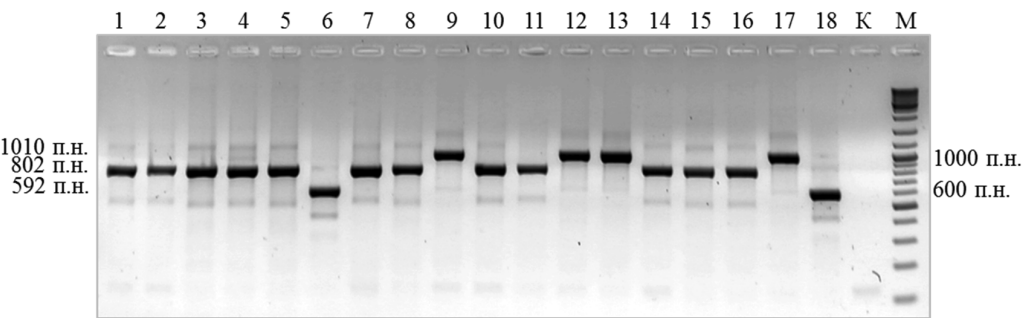


Рис. 4. Електрофореграма продуктів полімеразної ланцюгової реакції на ген *Wax* ячменю. Розмір фрагментів маркера вказано праворуч. Доріжка 1 — сорт Claire; 2 — Модерн; 3 — Gainer; 4 — Козацький; 5 — лінія Golden Promise Tr4 (x5+y10); 6 — сорт Alamo; 7 — Ахіллес; 8 — лінія Golden Promise Tr3 (y10); 9 — сорт Annabell; 10 — Лука; 11 — JB Maltasia; 12 — Галичанин; 13 — Командор; 14 — Shakira; 15 — Ахіллес; 16 — контрольний сорт Rosalina; 17 — контрольний сорт Danuta; 18 — контрольний сорт Candle; К — негативний контроль; М — маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA Ladder Mix

Таблиця 3

Результати дослідження алельного стану гена *Wax* у зразків ячменю

№	Зразок	<i>Wax/wax</i>	№	Зразок	<i>Wax/wax</i>
1	Abyssinian 1105	1010 п. н.	22	JB Maltasia	802 п. н.
2	Alamo	592/802 п. н.	23	Jennifer	802 п. н.
3	Alamo	592 п. н.	24	Jennifer (Київ)	802 п. н.
4	Albert	1010 п. н.	25	Jet	1010 п. н.
5	Annabell	1010 п. н.	26	Kangoo	802 п. н.
6	Arabische	1010 п. н.	27	KWS Aliciana	802 п. н.
7	Azimuth	802 п. н.	28	Kristalia	802 п. н.
8	Beatrise	802 п. н.	29	Ksanadu	802 п. н.
9	Bellona	802/1010 п. н.	30	Mal 7	802 п. н.
10	Bojos	802 п. н.	31	Marthe	802 п. н.
11	Candle	592 п. н.	32	McGwire	802 п. н.
12	Danuta	1010 п. н.	33	McGwire	802 п. н.
13	Daura	802 п. н.	34	Negro Manfredi	802 п. н.
14	Fibon	802 п. н.	35	Olande	802 п. н.
15	Gainer	802 п. н.	36	Philadelphia	802 п. н.
16	Golden Promise	802 п. н.	37	Shakira	802 п. н.
17	Golden Promise Tr2 x5	802 п. н.	38	Sulto	802 п. н.
18	Golden Promise Tr3 y10	802 п. н.	39	Адапт	1010 п. н.
19	Golden Promise Tr4 x5+10y	802 п. н.	40	Ахіллес	802 п. н.
20	Henley	802 п. н.	41	Ахіллес	802 п. н.
21	<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>trifurcatum</i>	1010 п. н.	42	Барка	802 п. н.

Закінчення табл. 3

№	Зразок	Wax/wax
43	Беатрикс	802 п. н.
44	Вакула	802 п. н.
45	Вестнік	802 п. н.
46	Водограй	1010 п. н.
47	Воєвода	802 п. н.
48	Воєвода	802/1010 п. н.
49	Всесвіт	802/1010 п. н.
50	Галактик	802/1010 п. н.
51	Галатя	802 п. н.
52	Галичанин	1010 п. н.
53	Гамбрінус	802 п. н.
54	Геліос	802 п. н.
55	Геліос	802 п. н.
56	Геліос 1	802 п. н.
57	Геліос	802 п. н.
58	Гетьман	802 п. н.
59	Gladys	802 п. н.
60	Datcha	1010 п. н.
61	Дерибас	802 п. н.
62	Jersey	802 п. н.
63	Дружба	802 п. н.
64	Ebson	802 п. н.
65	Едем	802 п. н.
66	Еней	1010 п. н.
67	Henrike	802 п. н.
68	Зоряний	802 п. н.
69	Ілот	802 п. н.
70	Ітиль	1010 п. н.
71	Казковий	802 п. н.
72	Quench	802 п. н.
73	KWS Bambina	802 п. н.
74	Claire	802 п. н.
75	Козван	802 п. н.
76	Козацький	802 п. н.
77	Командор	1010 п. н.
78	Командор	1010 п. н.
79	Лука	802 п. н.
80	Лука	802 п. н.
81	Медікум 46	802 п. н.
82	Модерн	802 п. н.
83	Модерн	802 п. н.
84	Незалежний	802 п. н.

№	Зразок	Wax/wax
85	Нутанс 244	802 п. н.
86	Нутанс 778	1010 п. н.
87	Нутанс 106	802 п. н.
88	Нутанс 518	802 п. н.
89	Оболонь	802 п. н.
90	Одеський 100	802/1010 п. н.
91	Одеський 111	802 п. н.
92	Одеський 115	802 п. н.
93	Одеський 131	1010 п. н.
94	Одеський 14	802 п. н.
95	Одеський 151	1010 п. н.
96	Одеський 18	802 п. н.
97	Одеський 36	802 п. н.
98	Одеський 69	802 п. н.
99	Одеський 70	802 п. н.
100	Одеський 82	802 п. н.
101	Одеський 9	1010 п. н.
102	Паллідум 107	1010 п. н.
103	Паллідум 32	1010 п. н.
104	Первенець	802 п. н.
105	Переможний	802 п. н.
106	Південний	1010 п. н.
107	Прерія	1010 п. н.
108	Престиж	802 п. н.
109	Rosalina	802 п. н.
110	Романтик	802 п. н.
111	Рось	802 п. н.
112	Святогор	802 п. н.
113	Святогор	802 п. н.
114	Селеніт	802 п. н.
115	Скарлет	802 п. н.
116	Славутич	802 п. н.
117	Сталкер	802 п. н.
118	Степовий	802 п. н.
119	Тайфун	1010 п. н.
120	Хадар	802 п. н.
121	Чарівний	802 п. н.
122	Чорноморець	802/1010 п. н.
123	Чудовий	1010 п. н.
124	Charmay	802 п. н.
125	Южний	802/1010 п. н.
126	Юкатан	802 п. н.

25 зразків з розміром амплікону 1010 п. н. та 2 зразки ваксі ячменю — Candle та Alamo, які несуть нуль-алель (амплікон 592 п. н.). Частота виявлення у досліджуваній вибірці гомогенних зразків складає 93,6 %, гетерогенних — 6,4 %.

Отримані у цьому дослідженні дані стосовно алельного стану генів *Bmy1*, *LOX-1* та *Wax*, як і вивчені колекційні зразки ячменю, широко використовуються у відділі генетичних основ селекції СГІ у програмі створення селекційного матеріалу для сортів ярого і озимого голозерного ячменю харчового і кормового напрямів технологічного використання зерна.

Висновки. 1. У результаті дослідження колекції сортів ячменю було виявлено 63 зразки з потенційно середньою активністю та термостабільністю ферменту β -амілази, критичного для процесу ферментації зерна ячменю, що кодується алелем *Bmy1.b* гена *Bmy1*. Жодного зразка ячменю з алелем *Bmy1.c*, що контролює максимальну активність і термостабільність β -амілази, не виявлено.

2. Аналіз генетичних варіантів ферменту ліпоксигенази-1, що кодується геном *LOX-1*, показав мономорфізм колекції сортів ячменю за алельним станом цього гена і відсутність неактивного алеля *lox A*.

3. ПЛР тест дозволяє надійно ідентифікувати як гомогенні, так і гетерогенні за алельним станом досліджених локусів зразки ячменю.

4. Серед вітчизняних сортів ячменю спостерігається відсутність *wax* (нуль-алелю). Це свідчить про те, що в Україні до цього часу не велася селекція сортів ячменю ваксі. В той же час селекція ячменів ваксі активно розвивається за кордоном, особливо у напрямі створення сортів ячменю харчового та кормового напрямів використання зерна.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Vinje M. A., Duke S. H., Henson C. A. Utilization of different *Bmy1* intron III alleles for predicting β -amylase activity and thermo stability in wild and cultivated barley. Plant Molecular Biological Report. — 2010. — Vol. 28, Issue 3. — P. 491–501.
2. Erkkilä J. M. Intron III-specific for screening of β -amylase alleles in barley cultivars. Plant Molecular Biology Reporter. — 1999. — Vol. 17. — P.139–147.
3. Zhang W., Kaneko T., Takeda K. β -Amylase variation in wild barley accessions. Breeding Science. — 2004. — Vol. 54. — P. 41–49.
4. Hirota N., Kaneko T., Kuroda H., Kaneda H., Takashio M., Ito K., Takeda K. Characterization of lipoxygenase-1 null mutants in barley // Theoretical & Applied Genetics. — 2005. — Vol. 111, Issue 8. — P. 1580–1584.
5. Ishikawa N. Artificial induction and characterization of amylose-free mutants of barley // Barley Genet. Newsl. — 1995. — Vol. 24. — P. 49–53.
6. Domon E. The insertion / deletion polymorphisms in the waxy gene of barley genetic resources from East Asia // TheorAppl Genet. — 2002. — Vol. 104. — P. 132–138.
7. Кирдогло Е. К., Полищук С. С., Червонис М. В. Методология и результаты селекции ячменя пищевого использования // Труды по прикладной ботани-

- ке, генетике и селекции ВИР (Российская Федерация). — 2013. — Т. 171. — С. 240–253.
8. Kihara M., Kaneko T., Ito K. Genetic variation of β -amylase thermo stability among varieties of barley *Hordeum vulgare* L. and relation to malting quality, Plant Breeding. — 1998. — Vol. 117. — P. 425–428.
9. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні в 2013 році. Український інститут експертизи сортів рослин. — К., 2013. — С. 30–37.

Надійшла 29.10.2014.

UDC 575.113.2:633.16:663.421

Polyshchuk S. S., Morgun B. V., Rybalka O. I. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

POLYMORPHISM OF THE *Bmy1*, *LOX-1* AND *Wax* GENES AS DETERMINANTS OF THE BARLEY GRAIN NUTRITION VALUE

Allelic variation study of the *Bmy1*, *LOX-1* and *Wax* genes coding for biosynthesis of several key enzymes determining of the nutritional barley grain value is presented in the paper. Neither of the important for nutrition barley grain quality alleles actively used worldwide in barley breeding was found among of the Ukrainian barley varieties collection.

УДК 575.113.2:633.16:663.421

Полищук С. С., Моргун Б. В., Рыбалка А. И.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *Bmy1*, *LOX-1* И *Wax* КАК ДЕТЕРМИНАНТОВ ПРИЗНАКОВ ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ ЗЕРНА ЯЧМЕНЯ

Исследовано аллельное состояние генов *Bmy1*, *LOX-1* и *Wax*, контролирующих активность нескольких ключевых ферментов, определяющих важные характеристики пищевой ценности зерна ячменя. Среди изученного коллекционного материала отечественных сортов ячменя не найдено ни одного аллельного варианта этих генов, которые сегодня активно используются в мировой селекции сортов ячменя, специализированных по направлениям пищевого использования зерна.

УДК 633.112:57.085.2

Г. О. ДОБРОВА, мол. наук. співроб.,
СГІ-НЦСС, Одеса
e-mail: dobrovaann@gmail.com

ВПЛИВ ПОПЕРЕДНЬОЇ ХОЛОДОВОЇ ТА ГОРМОНАЛЬНОЇ ОБРОБКИ КОЛОСЯ НА АНДРОГЕНЕЗ *IN VITRO* СОРТІВ ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ ОЗИМОЇ

З метою отримання подвоєних гаплоїдів пшениці твердої визначали вплив попередньої обробки колосся із застосуванням низьких позитивних температур (3–4 °C) та водних розчинів абсцизової кислоти (АБК) у концентраціях 0,25 та 0,5 мг/л на індукцію новоутворень і регенерацію рослин в умовах *in vitro* п'яти сортів пшениці твердої озимої (*Triticum turgidum* subsp. *durum* Desf.): Айсберг одеський, Алий парус, Босфор, Гардемарин, Корал одеський. Тривалість обробки 3–7 діб. Застосування водного розчину АБК в концентрації 0,25 мг/л підвищувало рівень індукції новоутворень в культурі пильків сортів Алий парус та Гардемарин, а в концентрації 0,5 мг/л — сорту Босфор. Значного впливу абсцизової кислоти на індукційну спроможність сорту Айсберг одеський не виявлено. Рівень індукції новоутворень у Корал одеського знизився за попередньої обробки колосся АБК. Достовірного впливу попередньої обробки на регенерацію рослин в умовах *in vitro* не виявлено.

Ключові слова: пшениця тверда, андрогенез *in vitro*, попередня обробка колосся, абсцизова кислота, індукція новоутворень, регенерація рослин.

Вступ. Отримання подвоєних гаплоїдів — це доволі ефективний біотехнологічний метод у селекції пшениці, який дозволяє значно прискорити процес створення нових сортів. Відомо, що на індукційну спроможність злаків впливають як умови культивування [1, 2], так і генотип рослин [3]. Дослідження впливу саме умов культивування має важливе значення, оскільки дозволяє виявити оптимальні умови, за яких можливо отримати максимальний вихід гаплоїдних рослин.

Попередня обробка колосся стимулює перехід мікроспор с гаметофітного на спорофітний шлях розвитку. Для цього багато науковців використовують низькі позитивні температури і розчини АБК у роботі з пшеницею твердою [4, 5] і м'якою [6, 7].

Мета дослідження. 1. Оцінити вплив концентрації АБК у водних розчинах для попередньої обробки колосся на рівень індукції новоутворень та регенерації рослин *in vitro*.

2. Визначити вплив тривалості попередньої обробки колосся на рівень індукції новоутворень та регенерації рослин *in vitro*.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на сортах пшениці твердої озимої Айсберг одеський, Алий парус, Босфор, Гардемарин, Корал одеський.

Батьківські рослини пшениці вирощували на польових ділянках СГІ–НЦНС. Колосся зрізали, коли мікроспори знаходились у середньопізній фазі розвитку. Для попередньої обробки колосся витримували у водному розчині абсцизової кислоти з концентрацією 0, 0,25 та 0,5 мг/л при 4 °C протягом трьох та семи днів у темряві [8]. Після попередньої обробки колосся поверхнево стерилізували насиченим розчином гіпохлориту кальцію за прийнятою методикою [7]. В асептичних умовах з колосся виділяли пиляки та експлантували на живильне середовище С 17 [9] в модифікації [10, 11]. Сформовані на індукційних живильних середовищах новоутворення експлантували на середовища 1/2 MS [9] та N6 [12] в модифікації [13]. Після 10–15 днів культивування структури пересаджували на безгормональне середовище MS для регенерації [13].

Для кількісного обліку отриманих результатів підраховували процент новоутворень та рослин-регенерантів від кількості експлантованих пиляків і довірчий інтервал. Статистичну достовірність отриманих результатів визначали за критерієм Стюдента та за двофакторним дисперсійним аналізом [14].

Результати і обговорення. Оцінили вплив тривалості попередньої обробки колосся в розчині абсцизової кислоти і концентрації гормону на ефективність методу культури пиляків *in vitro*. Отримані результати наведено в таблиці 1.

З отриманих даних зрозуміло, що рівень індукції новоутворень варіював залежно від концентрації АБК у розчині для попередньої обробки та її тривалості. Загалом індукція новоутворень була низька, окрім сорту Гардемарин, для якого характерний найбільший рівень індукції на дослідних варіантах з АБК. У сорту Корал одеський, навпаки, спостерігали зниження рівня індукції новоутворень за обробки колосся абсцизовою кислотою. Рівень регенерації рослин був низьким у всіх досліджених сортів. Регенерація спостерігалась лише у восьми з двадцяти одного дослідного варіанту. Зовсім не отримано рослин-регенерантів сортів Айсберг одеський та Босфор. На середовищі для регенерації були сформовані лише «альбіно» рослини. Це є підставою для подальших досліджень і пошуку оптимальних варіантів попередньої обробки колосся і умов культивування для підвищення рівня регенерації. Наразі серед усіх досліджених генотипів різного генетичного складу виявили два генотипи пшениці твердої ярої, які чутливі до культури пиляків *in vitro* і регенерують зелені рослини. Можливо, ці генотипи можуть бути «донорами регенерації», що є підставою до залучення їх у подальшу селекційну роботу.

Таблиця 1

Індукція новоутворень і регенерація рослин *in vitro* за різних варіантів попередньої обробки колосся

Тривалість попередньої обробки, дні	Сорт	Концентрація АБК, мг/л			Концентрація АБК, мг/л		
		0	0,25	0,5	0	0,25	0,5
		індукція новоутворень, шт. на 100 пиляків			регенерація («альбіно»), шт. на 100 пиляків		
3	Алий парус	0,7± 0,35	0,26± 0,26	0,54± 0,29	0	0	0,13± 0,13
	Корал одеський	2,34± 0,73*	0,4± 0,28	0,7± 0,41	0	0,2± 0,2	0
7	Алий парус	1,31± 0,46	3,6± 0,71^	0,9± 0,4	0	0,29± 0,2	0
	Корал одеський	3,87± 1,1*	0,77± 0,29	0,56± 0,32	0,65± 0,45	0	0,19± 0,19
	Айсберг одеський	1,02± 0,39	1,57± 0,52	0,96± 0,43	0	0	0
	Босфор	0	0	0,65± 0,38	0	0	0
	Гардемарин	0,92± 0,41*	13,2± 1,6	8,33± 1,31	0,18± 0,18	0,89± 0,45	0,23± 0,22

Примітка: * — різниця між дослідними варіантами сортів Корал одеський і Гардемарин на різних концентраціях АБК достовірна при $P < 0,01$;

^ — різниця між дослідними варіантами за різної тривалості передобробки сорту Алий парус достовірна при $P < 0,05$.

Вплив тривалості попередньої обробки на індукцію новоутворень і регенерацію рослин *in vitro*. Дослідження проводили на двох сортах: Алий парус і Корал одеський. Отримані результати наведено на рисунку 1 та в таблиці 1.

Достовірного впливу тривалості попередньої обробки на рівень індукції новоутворень рослин у обох сортів майже за всіма дослідженими варіантами розчинів не виявлено. Єдиний дослід, у якому одержано позитивний вплив тривалості попередньої обробки колосся, — по сорту Алий парус (сім діб у водному розчині з концентрацією АБК 0,25 мг/л). В інших дослідних варіантах різниця у рівні індукції новоутворень за різної тривалості попередньої обробки спостерігалась, але не була підтверджена статистично. Можливо, це пов'язано із замалою вибіркою і, як наслідок, великою похибкою. Це зумовлює необхідність подальших досліджень, оскільки отримані результати виявились неоднозначними.

Рівень регенерації рослин у культурі був низький у всіх дослідних варіантах. З отриманих новоутворень на середовищі для регенерації одержані лише рослини-альбіноси. Впливу тривалості попередньої обробки на регенерацію рослин не виявили.

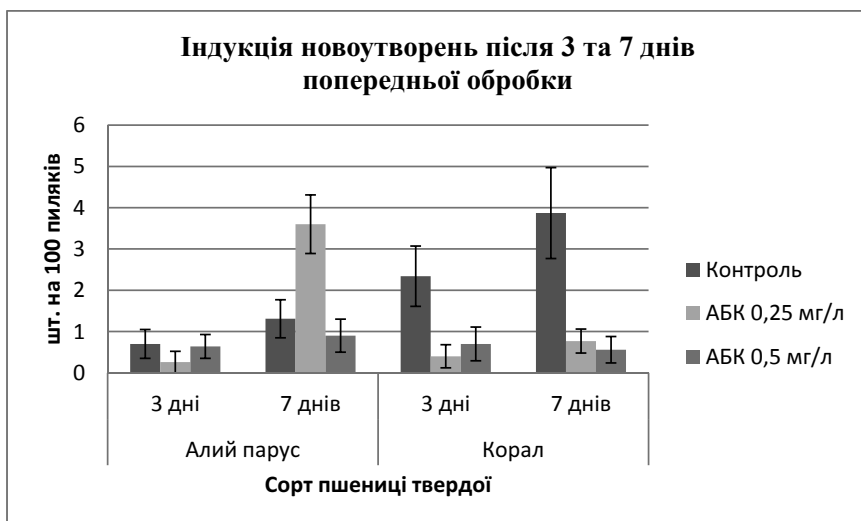


Рис. 1. Залежність індукції новоутворень від тривалості попередньої обробки у сортів Алий парус і Корал одеський

Вплив концентрації абсцизової кислоти на індукцію новоутворень і регенерацію рослин *in vitro*. Дослідження проводили на сортах Алий парус і Корал одеський з 3-добовою попередньою обробкою і на сортах Айсберг одеський, Босфор, Гардемарин, Алий парус і Корал одеський з 7-добовою попередньою обробкою. Результати досліджень наведені в таблиці 1 і на рисунках 1 і 2.



Рис. 2. Залежність індукції новоутворень від концентрації АБК у розчині для попередньої обробки досліджуваних сортів

Дослідженням виявили, що для сорту Корал одеський характерне зниження індукції новоутворень після обробки колосся водним розчином АБК. Достовірного впливу концентрації абсцизової кислоти у водному

розчині для попередньої обробки на рівень індукції новоутворень рослин сорту Айсберг одеський не виявлено. Для сортів Алий парус і Гардемарин оптимальною концентрацію АБК у розчині для попередньої обробки є 0,25 мг/л. Для Босфору рівень індукції новоутворень, більший від нуля, спостерігали після попередньої обробки розчином з 0,5 мг/л АБК. Максимальний рівень індукції новоутворень отримали у Гардемарина за обробки колосся розчином АБК у концентрації 0,25 мг/л.

Статистичну достовірність отриманих даних перевіряли дисперсійним аналізом за факторами «концентрація АБК» і «генотип». За 3-добової обробки колосся сортів Алий парус і Корал одеський абсцизова кислота достовірно впливає на рівень індукції новоутворень при рівні значущості $P < 0,05$. За 7-добової попередньої обробки вплив концентрації АБК на рівень індукції новоутворень є достовірним при рівні значущості $P < 0,01$ для сорту Гардемарин. Достовірного впливу концентрації АБК на рівень регенерації рослин не виявлено.

Отже, досліджені сорти реагували на попередню обробку абсцизовою кислотою по-різному. Ймовірно, це пов'язано з ендегенним рівнем АБК у донорному матеріалі. Для підтвердження даного припущення необхідно біохімічно визначати рівень ендегенної АБК у дослідних рослинах. Це є підставою для подальших досліджень з розширеним набором генотипів.

Висновки. 1. Виявлений різний характер впливу АБК у концентраціях 0,25 та 0,5 мг/л у розчині для попередньої обробки колосся твердої пшениці на перший етап (індукція новоутворень) андрогенезу *in vitro*. Сорт Айсберг одеський був нечутливий до АБК, у Корала одеського АБК пригнічувала, а Алого паруса, Босфору та Гардемарина — підвищувала індукцію новоутворень.

2. Достовірного впливу тривалості попередньої обробки на рівень індукції новоутворень у досліджених сортів твердої пшениці не виявлено.

3. У всіх дослідних варіантах отримали лише регенеранти-альбіноси. Рівень регенерації не залежав від варіанта попередньої обробки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Trottier M. C., Collin J., Comeau A. Comparison of media further aptitude in wheat anther culture // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. — 1993. — V. 35. — P. 59–67.
2. Ігнатова С. О., Лобанова К. І. Фактори, що впливають на реалізацію регенераційного потенціалу мікроспор в культурі пиляків м'якої пшениці // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. — 2007. — Т. 2. — С. 492.
3. Caredda S., Cl'ement C. Androgenesis and albinism in Poaceae: influence of genotype and carbohydrates // Cl'ement C., Pacini E., Audran J. C. (eds.). Anther and pollen: from biology to biotechnology. — Berlin: Springer, 1999. — P. 211–228.
4. Slama Ayed O., De Buyser J., Picard E. et al. Effect of pre-treatment on isolated microspores culture ability in durum wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*)

- Desf.) // Journal of Plant Breeding and Crop Science. — 2010. — V. 2, № 2. — P. 30–38.
5. Genovesi A. D. and Maggill C. W. Improved rate of callus and green plant production from rice anther culture following cold shock // Crop Science. — 1979. — V. 19. — P. 662–664.
 6. Hu T., Kasha K. J. Cytological study of pretreatments used to improve isolated microspore cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.) c.v. chris. / Genome. — 1999. — V. 42. — P. 432–441.
 7. Ігнатова С. О., Жосонар М. В., Лобанова К. І., Шестопа О. Л. Отримання подвоєних гаплоїдів м'якої пшениці в культурі пиляків // Методичні рекомендації. Півден. біотехнолог. центр в рослин-ві УААН. — Одеса, 2008. — 12 с.
 8. Ігнатова С. О., Лобанова К. І., Шестопа О. Л. Спосіб підвищення регенераційного потенціалу в культурі пиляків озимої м'якої пшениці. Патент України МПК № 21988 від 10.04.07. — Бюл. № 4.
 9. Foroughi—Wehr B., Zeller F. J. *In vitro* microspore reaction of different German wheat cultivars // Theoretical and Applied Genetics. — 1990. — V. 79. — P. 77–80.
 10. Доброва Г. О. Вплив поживного середовища на індукцію новоутворень тетраплоїдної пшениці в культурі пиляків *in vitro* // Матеріали VIII Міжнародної конференції молодих учених «Біологія: від молекули до біосфери». — Харків, 2013. — С. 145.
 11. Замбріборщ І. С., Доброва Г. О., Шестопа О. Л., Ружицька О. М. Індукція новоутворень в культурі пиляків тетраплоїдної пшениці *Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl. *in vitro* // Сборник научных трудов SWorld. — 2013. — С. 28–32.
 12. Chu C. C., Wang C. C., Sun C. S. et al. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources // Sci Sin. — 1975. — V. 18. — P. 659–668.
 13. Лобанова К. І., Жосонар М. В., Ігнатова С. О. Шляхи реалізації регенераційного потенціалу в культурі пиляків у різних генотипів озимої м'якої пшениці // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. — 2006. — Т. 4, № 1. — С. 52–57.
 14. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — 3-е изд. — Минск: Высшая школа, 1973. — 320 с.

Надійшла 09.12.2014.

UDC 633.112:57.085.2

Dobrova G. O. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

THE EFFECT OF COLD AND HORMONAL SPIKES PRE-TREATMENT ON *IN VITRO* ANDROGENESIS IN WINTER DURUM WHEAT CULTIVARS

Tetraploid wheat doubled haploid production is an important stage of a breeding process. It is necessary to investigate the influence of various fac-

tors on the method efficiency. This study determined the effect of spikes pretreatment ears on induction and plants regeneration *in vitro*. Material for investigation included winter durum wheat varieties. For pre-treatment low positive temperature (3–4 °C) and water abscisic acid (0.25 and 0.5 mg/l) during three and seven days were used. The effect of abscisic acid concentration and pre-treatment duration on androgenesis *in vitro* efficiency was established.

УДК 633.112:57.085.2

Доброва А. А.

ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ И ГОРМОНАЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ КОЛОСЬЕВ НА АНДРОГЕНЕЗ *IN VITRO* СОРТОВ ПШЕНИЦЫ ТВЕРДОЙ ОЗИМОЙ

С целью получения удвоенных гаплоидов твердой пшеницы оценили влияние предобработки колосьев с применением низких положительных температур (3–4 °C) и водных растворов абсцизовой кислоты (АБК) в концентрациях 0,25 и 0,5 мг/л на уровень индукции новообразований и регенерации растений в условиях *in vitro* пяти сортов пшеницы твердой озимой (*Triticum turgidum* subsp. *durum* desf.): Айсберг одесский, Алый парус, Босфор, Гардемарин, Коралл одесский. Длительность предобработки 3–7 суток. Применение водного раствора АБК в концентрации 0,25 мг/л повышало уровень индукции новообразований в культуре пыльников растений у сортов Алый парус и Гардемарин, а в концентрации 0,5 мг/л — Босфора. Значительного влияния абсцизовой кислоты на индукционную способность растений сорта Айсберг одесский не обнаружено. Уровень индукции новообразований Коралла одесского снизился после предобработки колосьев АБК. Достоверного влияния условий обработки на регенерацию растений в условиях *in vitro* не обнаружено.

УДК 633.1:663.031.031.2/.4

І. О. СУРЖЕНКО, мол. наук. співроб.,
М. В. ЧЕРВОНІС, к. с.-г. н., пров. наук. співроб.,
І. Г. ТОПОРАШ, к. т. н., пров. наук. співроб.,
С. С. ПОЛІЩУК, мол. наук. співроб.,
СГІ-НЦНС, Одеса
e-mail: surzhenko-od@mail.ru

СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕТОДИ ПОЛІПШЕННЯ ТРИТИКАЛЕ ЯК БІОЕНЕРГЕТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ ТА ЙОГО ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ З ІНШИМИ ЗЕРНОВИМИ КУЛЬТУРАМИ

Проведено порівняльний аналіз сортів тритикале з сортами основних зернових культур за показниками ефективності трансформації збіжжя в біоетанол та побічні продукти. Досліджено вплив генотипу ваксі на ферментабельність крохмалю пшениці, ячменю і кукурудзи та зроблено висновок про доцільність поліпшення крохмалю тритикале шляхом введення в його геном ваксі генів. Створено селекційний матеріал озимого тритикале з високою зерновою продуктивністю, морозостійкістю та ферментабельністю. Розроблено програму та започатковано дослідження зі створення тритикале ваксі з використанням спеціальних генетичних систем.

Ключові слова: зернові культури, крохмаль, ферментабельність, біоетанол, гени Wx, Ha, критерії селекції.

Вступ. Широке використання біологічних видів палива у відповідності з принципами екологічно раціонального ведення сільського господарства відкриває нові можливості для стійкого розвитку сільських районів у межах ринково орієнтованої аграрної політики. Розвиток у сфері виробництва біоетанолу в Україні дасть можливість суттєво скоротити імпорт нафтопродуктів, підвищити енергетичну незалежність країни та екологічну безпеку довкілля. Згідно розрахунків українських аналітиків, застосування біоетанолу в споживчому бензині у межах 10 % скоротить об'єм імпортованої нафти до 700 тисяч тонн.

У той же час Україна має потужну зернову сировинну базу, яка може стати стабільним джерелом поновлюваного палива.

Тритикале завдяки унікальному поєднанню господарсько цінних ознак — стабільному та високому потенціалу урожайності зерна, високим адаптивним властивостям, комплексному імунітету до грибкових захворювань [1], високій ферментативній активності, кормовій цінності сухого збродженного залишку — є перспективною біоенергетичною культурою. Посівні площі під тритикале в світі перевищили 5,5 млн га, значна

частина з них знаходиться в Європі (у Польщі — 900 тис. га, у Німеччині — 600, у Білорусі — понад 500 тис. га. Вагому частину валового збору тритикале використовують для виробництва біоетанолу, оскільки саме ця культура найбільш вигідна для виробництва біопалива з-поміж основних зернових культур. На жаль, в Україні тритикале використовують в основному як кормову культуру, оскільки вона не набула поширення у хлібопекарстві, тому що алельний склад Gli/Glu локусів, які кодуєть біосинтез клейковинних білків, представлені, головним чином, алелями, характерними для сортів твердої пшениці. А це означає, що, незважаючи на участь у схрещуваннях м'якої пшениці, Gli/Glu алелі у більшості зразків тритикале відсутні. Потенціал хлібопекарської якості тритикале з урахуванням генетичної варіабельності Gli/Glu і Sec локусів є досить низький і може бути поліпшений лише шляхом цілеспрямованої інтрогресії в його геном алелів Gli/Glu локусів з позитивним ефектом на якість борошна та елімінації Sec локусів жита, що є дуже складною проблемою для селекціонера. Також слабкість тритикалевого борошна пояснюється фракційним складом його білків, які містять підвищену, порівняно з пшеничним борошном, кількість водорозчинних і солерозчинних фракцій та високою активністю протеолітичних ферментів.

Отже, цільове використання тритикале для переробки в технічний біоетанол чи харчовий спирт може бути найбільш прийнятним напрямом його технологічного використання. Воно успадкувало від жита високий рівень ендогенної ферментативної (амілазної) активності, яка має надзвичайно велике значення в процесі розщеплення молекул крохмалю до низькомолекулярних вуглеводів і збродження їх до етилового спирту. Також зерно тритикале збагачене незамінними амінокислотами, в тому числі лізином, тому сухий зброджений залишок після ферментації та дистиляції зерна є цінним кормом для тварин.

Наші дослідження були сфокусовані на порівняльний аналіз тритикале з іншими зерновими культурами, вивчення ферментабельності його сортів та селекційних ліній, залучення в селекційний процес генетичного матеріалу, що контролює специфічні властивості крохмалю та зернову продуктивність.

Матеріал та методи дослідження. Вихід біоетанолу та побічних продуктів його переробки визначали за галузевим стандартом ГСТУ 46.045–2003 з власними модифікаціями; концентрацію етанолу — за допомогою пікнометрів та спеціальних розрахункових таблиць; вміст крохмалю — поляриметрично за ГОСТ 10845; вміст білка в зерні та сухому зброженому залишку — за ГОСТ 10846 методом Кьельдаля; вміст вологи у зерні — згідно ГОСТ 13586.5, у сухому зброженому залишку — згідно ГОСТ 13979.1.

Для дослідження використовували районовані сорти пшениці, тритикале, ячменю та гібриди кукурудзи Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва, селекційний матеріал відділу генетичних основ селекції

СГІ — лінії пшениці ваксі та голозерного ячменю ваксі, лінії тритикале, які отримані від схрещування тритикале (Богдан) з лінією мексиканського тритикале ССТ, яка має хромосомне заміщення (5B)5D, лінії кукурудзи ваксі, створені у відділі селекції та насінництва кукурудзи СГІ.

Результати дослідження. Першим етапом досліджень був порівняльний аналіз ферментабельних властивостей основних зернових культур. Важливою генетично-селекційною ознакою є показник ефективності трансформації крохмалю зерна пшениці в біоетанол — вихід його на 1000 кг крохмалю. Саме цьому показнику, а не виходу біоетанолу з одиниці зерна, слід віддавати перевагу при селекції спиртодистильного напрямку [1]. За цим критерієм, як видно з таблиці 1, тритикале займає провідне місце.

Таблиця 1

Вихід абсолютного етанолу з 1 тонни крохмалю, л/1000 кг

Культура	n	Середнє значення	Максимальне значення	Мінімальне значення
Яре тритикале	12	573	604	540
Кукурудза	10	563	575	523
Озиме тритикале	10	549	593	511
Пшениця	6	547	571	529
Ячмінь	8	546	580	496
Просо	10	543	568	517
НСР _{0,05}	9,0			
НСР _{0,01}	12,2			

Крім етанолу важливим за значенням продуктом переробки зерна в біоетанол є сухий зброджений залишок. За технологією трансформації зерна в біоетанол він проходить кілька температурних стадій обробки, зокрема високотемпературну фазу (90–95 °C) протягом кількох годин, фази ферментації, дріжджового бродіння та дистиляції і висушування. Сухий зброджений залишок добре зберігається і може застосовуватися на корм як у чистому вигляді, так і у формі кормових сумішей. Висока кормова цінність збродженого залишку сортів та гібридів зернових культур зумовлюється високим вмістом легкоперетравлюваного білка, наявністю залишку крохмалю та бактеріальними добавками. Сухий зброджений залишок зерна тритикале має більш високу кормову цінність, ніж інших зернових культур, за вмістом вітамінів, кальцію, фосфору, токоферолів та амінокислотним складом білка.

Сорти та гібриди зернових культур суттєво відрізняються між собою за вмістом білка у зброженому залишку, який варіюється від 217 до 300 кг на тонну вихідної зернової маси (табл. 2). Та, як відомо, за амінокислотним складом білок зерна тритикале вигідно відрізняється за вмістом незамінних амінокислот — лізину, метіоніну, триптофану, треоніну.

Таблиця 2

Вміст білка в сухому збродженому залишку, %

Культура	n	Середнє значення	Максимальне значення	Мінімальне значення
Пшениця	6	40,1	45,5	36,5
Озиме тритикале	10	39,1	44,5	33,7
Яре тритикале	12	33,7	41,1	26,9
Ячмінь	8	33,7	41,1	26,9
Кукурудза	10	32,7	38,3	29,8
Просо	10	25,4	29,6	22,9
НСР _{0,05}	2,7			
НСР _{0,01}	3,6			

І ще одним продуктом трансформації зернового збіжжя в біоетанол є вуглекислий газ, який продукують у великій кількості дріжджі під час спиртового бродіння. Вуглекислий газ органічного походження, який, на відміну від синтетичного CO₂, не містить жодних токсичних домішок, має високий попит у компаній, що виготовляють газовані напої. Тому на сучасних технологічних лініях індустріального виробництва біоетанолу вуглекислий газ збирають, очищають та осушують (або зріджують) і використовують для газування харчових напоїв.

Як видно з таблиці 3, найактивніша емісія вуглекислого газу спостерігалася у гібридів кукурудзи (142,3 літра CO₂ на 1000 кг зерна), тоді як сорти ячменю, проса характеризувалися найнижчим виходом вуглекислого газу (120,3 та 122,6 літра відповідно).

Таблиця 3

Вихід вуглекислого газу під час спиртового бродіння, л/1000 кг збіжжя

Культура	n	Середнє значення	Максимальне значення	Мінімальне значення
Кукурудза	10	142,3	152,0	132,4
Озиме тритикале	10	135,8	142,5	128,1
Пшениця	6	135,2	137,5	131,4
Яре тритикале	12	132,5	137,5	127,3
Просо	10	122,6	127,3	117,1
Ячмінь	8	120,3	127,3	112,0
НСР _{0,05}	3,4			
НСР _{0,01}	4,5			

Сорти пшениці та тритикале за кількістю виділеного газу на однаковому рівні.

Порівняльний аналіз зернових культур за основними показниками ефективності трансформації збіжжя в біоетанол та побічні продукти виділяє тритикале як перспективну біоенергетичну культуру. Але виробництво біоетанолу з цієї культури може бути економічнішим та ефективнішим при підвищенні продуктивності та ферментабельних властивостей

крохмалю селекційно-генетичними методами — включенням у селекційний процес нових генів, що контролюють зернову продуктивність та беруть участь у синтезі крохмалю зерна.

Для створення селекційного матеріалу озимого тритикале з високою зерною продуктивністю та морозостійкістю залучали спеціальний генетичний матеріал. Як один з компонентів схрещування використали короткостеблове високоморозостійке тритикале (сорт Богдан), отримане від схрещувань гексаплоїдного амфіплоїда синтетика ($2n=42$) зі зразком короткостеблового жита походженням від німецької компанії Петкус. У якості другого компонента схрещувань використали лінію мексиканського тритикале ССТ з хромосомним заміщенням (5B)5D. Ця унікальна лінія отримана від проф. Адама Лукашевського (Каліфорнійський університет, Ріверсайд, США) [2].

Відсутність хромосоми 5B створює умови для гомологічного спарювання не тільки хромосом пшениці, що належать до різних геномів, а також хромосом пшениці і жита. Слід зазначити, що пшениця і жито належать до різних ботанічних субтриб і генетично дуже віддалені. Тому в нормі при схрещуванні пшениці та жита хромосоми цих генетично різних культур не кон'югують, а тим більше не рекомбінують. Це по-перше. І по-друге, присутність хромосоми 5D, яка в нормі у гексаплоїдного тритикале відсутня, призводить до формування гранул крохмалю зі специфічною структурою. Тому при схрещуваннях тритикале за участю хромосомно-заміщеної (5B)5D лінії у гібридному потомстві відбувається потужний рекомбінаційний процес за участю гомеологічних хромосом як пшениці, так і жита. В результаті ми маємо різноманітний селекційний матеріал з широкою генетичною основою для добору.

Протягом декількох сезонів відібрані кращі зразки тритикале випробовувалися на морозостійкість. У 2011 році в результаті тривалої осінньої посухи перспективні лінії тритикале увійшли в зиму у фазі 2–3 листків і навіть без зачатків вузла кущіння. І все ж рослини вийшли на весну в чудовому стані, отримавши найвищий бал перезимівлі за умов, коли температура повітря опускалася до -25°C без снігового покриву. Жоден сорт озимої пшениці у цьому сезоні не одержав такої оцінки за морозостійкістю. Зразки тритикале випробовувалися також в незалежних дослідках Інституту фізіології рослин і генетики НАНУ. Умови перезимівлі дослідних посівів узимку 2013 р. характеризувалися потужними снігопадами та паводками у період відновлення весняної вегетації. І все ж наші зразки тритикале отримали найвищий бал за станом рослин після виходу із зими. Отже, ми маємо всі підстави стверджувати, що отримали цінний селекційний матеріал з високою морозо- і зимостійкістю.

Результати оцінки продуктивності зерна наших ліній тритикале наведені у таблиці 4. Можна бачити, що при середньому урожаї зерна стандартного сорту озимої пшениці Перлина Лісостепу 44,3 ц/га наші

лінії тритикале показали середній урожай 71,2 ц/га. А деякі з ліній наших тритикале перевищили сорт-стандарт озимої пшениці майже удвоє.

Таблиця 4

Результати випробування зразків озимого тритикале в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України, 2013 р.

Стандарт, зразок	Врожайність, ц/га			
	середнє значення	мінімальне значення	максимальне значення	± до стандарту
Перлина Лісостепу, ст.	44,3	37,0	49,5	–
ССТ(5В)5D х Богдан	71,2	50,5	89,0	+26

На цей час селекційний матеріал тритикале проходить лабораторну оцінку за виходом етанолу. Попередні результати свідчать, що ми отримали прекрасний селекційний матеріал з високою ферментабельністю та відмінними агрономічними показниками.

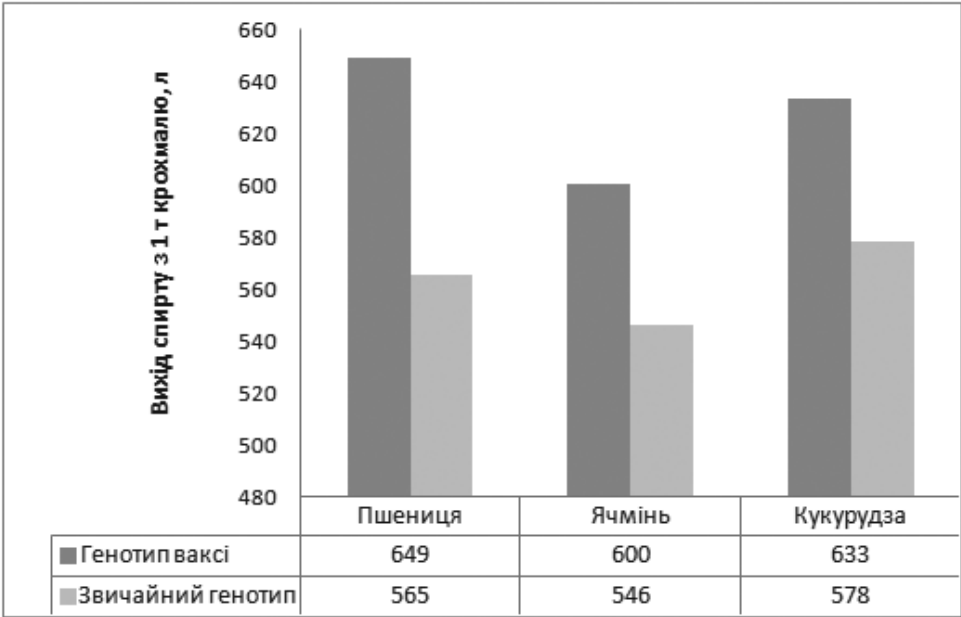


Рис. 1. Вплив генотипу ваксі на вихід абсолютного етанолу з 1 т крохмалю основних зернових культур

Виконані раніше у відділі генетичних основ селекції дослідження ефективності трансформації крохмалю зерна в етанол у різних зернових культур (пшениця, кукурудза, ячмінь) показали, що найвищу ферментабельність зерна мають генотипи з геном ваксі **Wx** і, відповідно, зміненим хімічним складом (нульовий вміст амілози) крохмалю та домінуючим геном, що контролює твердість зерна **Ha** [4, 5]. Оскільки ген **Ha** розміщений у хромосомі 5D, а тритикале в нормі цієї хромосоми не мають, то

переважна більшість сортів тритикале є м'якозерними і проблем у наявності у них гена **Ha** нема. Крохмаль ваксі має високі ферментабельні властивості завдяки тому, що він більш чутливий до механічної дії робочих органів млина [6].

Як видно з рисунка 1, генотипи ваксі значно перевищують за виходом етанолу з 1 т крохмалю генотипи звичайних комерційних сортів та гібридів досліджуваних культур.

Якщо порівнювати вплив генотипу ваксі по культурах, відсутність амілози в крохмалі найбільше вплинула на ферментабельність крохмалю пшениці, що підтверджує доцільність поліпшення крохмалю тритикале шляхом введення в його геном ваксі генів. Тому було започатковано дослідження зі створення тритикале ваксі. Робоча гіпотеза і програма досліджень базується на використанні у схрещуваннях створеного у відділі генетичних основ селекції СГІ сорту пшениці ваксі Софійка та кращих селекційних зразків тритикале, отриманих з використанням хромосомного заміщення 5B(5D). Фактично два рецесивні алелі гена *Wx*, а саме: *wx-A1* (7AS) і *wx-B1* (4AL) локалізовані в геномі А пшениці, в геномі В *wx*-алеля нема взагалі, а алель *wx-D1* (7DS) у тритикале, на відміну від пшениці м'якої, взагалі відсутній. Стосовно локалізації гена *Wx* у геномі тритикале ми інформації не маємо. Імовірно, що одна з житніх хромосом містить домінантний алель гена *Wx*, але яка саме, нам не відомо (рис. 2).

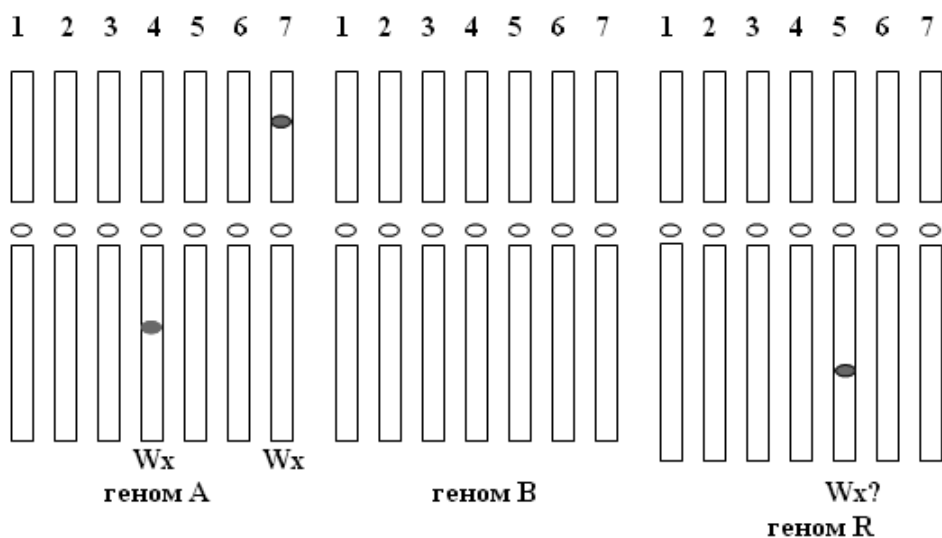


Рис. 2. Гіпотетична цитогенетична геномна структура тритикале за локалізацією алелів гена *Wx*

Для здійснення цієї доволі складної роботи нами у співробітництві з Інститутом клітинної біології і генної інженерії опрацьована процедура ідентифікації генотипів «частково ваксі» на матеріалі пшениці за допомогою оптимізованої процедури ПЛР. Ця процедура буде застосовуватися при скринінгу генотипів ваксі на гібридному матеріалі тритикале.

Досліджуваним матеріалом були гібриди F_5 пшениці, отримані від схрещування сорту Куяльник з ярою ваксі лінією (потрійний рецесив $wx/wx/wx$) Wx-12.

Як позитивний контроль на наявність нуль-алелів за всіма генами Wx використовували сорт пшениці ваксі Софійка.

На цей час нами отримані рослини F_1 і зерно F_2 від схрещування кількох наших кращих зразків тритикале з комбінації CCT(5B)5D x Богдан з сортом пшениці ваксі Софійка. Матеріал планується оцінити за комплексною системою методів оцінки якості селекційного матеріалу спирто-дистилятного напрямку.

Висновки. Отже, за результатами досліджень можна зробити висновок, що тритикале має високий потенціал для промислової переробки зерна в етанол та харчовий спирт за найбільш доцільним напрямом його використання.

Порівняльний аналіз сортів тритикале з сортами основних зернових культур виділив тритикале як перспективну біоенергетичну культуру за виходом абсолютного етанолу з 1 тонни крохмалю, вмістом білка в сухому збродженому залишку, виходом вуглекислого газу під час спиртового бродіння.

Для створення селекційного матеріалу з ознаками високої продуктивності, зимостійкості та ферментабельності використали такі селекційно-генетичні прийоми:

- хромосомне заміщення 5B(5D) як джерело індукованої відсутності хромосоми 5B (ген **pH**) міжхромосомної (пшениця / жито) рекомбінації, що є ефективним способом індукування (алосиндезу) генетичної варіабільності;

- залучення генів ваксі, які беруть участь у блокуванні синтезу амілози.

Залучення у селекційний процес нових генів, що контролюють зернову продуктивність та беруть участь у синтезі крохмалю зерна, підвищить економічність та ефективність виробництва біоетанолу з тритикале.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Спеціальна селекція польових культур / [В. С. Гірко, В. Д. Бугайов, С. П. Васильківський та ін.]. — Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет, 2010. — 369 с.
2. Червоніс М. В., Сурженко І. О. Селекційні критерії сортів та гібридів зернових культур для виробництва біоетанолу // Збірник наукових праць СГІ. — 2009. — № 4 (54). — С. 27–36.
3. Рибалка О. І., Червоніс М. В., Моргун Б. В. та ін. Генетичні та селекційні критерії створення сортів зернових культур спирто-дистилятного напрямку технологічного використання зерна // Физиология и биохимия культурных растений. — 2013. — Т. 45, № 1. — С. 3–19.
4. Червоніс М. В., Сурженко І. О., Аксельруд Д. В. Створення і дослідження генетичного матеріалу для селекції пшениці спирто-дистилятного напрямку // Збірник наукових праць СГІ, вип. 16 (56). — Одеса, 2010. — С. 33–38.

5. Рибалка О. І., Топораш І. Г., Червоніс М. В., Сурженко І. О. Пшениця ваксі з унікальними властивостями крохмалю: можливі напрямки її використання // Хранение и переработка зерна. — 2005. — № 7 (73). — С. 24–28.
6. Bettge A. Susceptibility of waxy starch granules to mechanical damage / A. Bettge, M. Giroux, C. Morris // Cereal Chemistry. — 2000. — Vol. 77. — P. 750–753.

Надійшла 04.11.2014.

UDC 633.1:663.031.031.2/.4

Surzhenko I. O., Chervonis M. V., Toporash I. G., Policshuk S. S.
Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

BREEDING AND GENETIC METHODS OF TRITICALE IMPROVEMENT AS BIOENERGETIC CROP AND ITS COMPARATIVE ANALYSIS WITH OTHER GRAIN CROPS

A comparative analysis of triticale varieties with varieties of major cereals by transformation criteria of grain to ethanol and by-products was made. The effect of wax genotype on starch transformation efficiency of wheat, barley and maize was investigated. Concluded feasibility of improving triticale starch by introducing Wax genes. A breeding stuff of winter triticale with high productivity, frost resistance and starch transformation efficiency was created. The program and researches of creation of wax triticale using special genetic systems were developed.

УДК 633.1:663.031.031.2/.4

Сурженко И. А., Червонис М. В., Топораш И. Г., Полищук С. С.

СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ УЛУЧШЕНИЯ ТРИТИКАЛЕ КАК БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ И ЕГО СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ С ДРУГИМИ ЗЕРНОВЫМИ КУЛЬТУРАМИ

Проведен сравнительный анализ сортов тритикале с сортами основных зерновых культур по показателям эффективности трансформации зерна в биоэтанол и побочные продукты. Исследовано влияние генотипа вакси на ферментабельность крахмала пшеницы, ячменя и кукурузы, сделан вывод о целесообразности улучшения крахмала тритикале путем введения в его геном генов вакси. Создан селекционный материал озимого тритикале с высокой зерновой производительностью, морозостойкостью и ферментабельностью. Разработана программа создания тритикале вакси с использованием специальных генетических приемов.

UDC 633.15 : 577.151 : 577.212

B. S. ZHUKOV, assist.,
G. I. SLISCHUK, j. r. s.,
N. E. VOLKOVA, Dr. Sci. (Biol.), p. r. s.
PBGI–NCSCI, Odesa
e-mail: natavolki@ukr.net

THE ANALYSIS OF THE GENE *y1* IN MAIZE BY THE METHODS OF BIOINFORMATICS

Four primer pairs for promoter, exons 1, 6 and introns 2, 3 polymorphism detection were designed as a result of bioinformatics analysis. Their efficiency was proven via in silico PCR, it was established that majority of polymorphic sites belong to intronic gene regions. By the mean of in silico translation phytoene synthase active site spatial structure was modelled. Exons polymorphism on enzyme spatial structure and therefore its functionality influence were shown.

Key words: *maize, y1 gene, phytoene synthase, polymorphism, bioinformatics.*

Introduction. Maize is not only economically significant culture in most countries, including Ukraine, but also maize is important model object in wide spectrum of scientific researches [1]. Through its characteristics maize became the most meticulously researched genetic system besides all cereals; maize had been used as model organism for such influential phenomena as domestication, pathogen resistance, heterosis, heritability and genome evolution [2]. Maize nuclear genome sequencing (B73 maize line) had been finished in 2009 [3]. But most of genes and loci up-to-date are not well researched, annotated and databases are not completed.

Biofortification is a novel perspective and promising approach for global nutritional problems resolving thorough plants nutritional value increasing via combining traditional breeding techniques with molecular genetics methods [4]. Main aim of biofortification strategy is decreased or eliminated antinutrients content and increased definite nutrients (including non-characteristic) content plants creation [5]. International program «Harvest Plus» is being started — it is alliance of many breeding and genetics organizations (<http://www.harvestplus.org>). First stage of this program is defined as wheat, rice and maize evaluation of genetic variability, specific for iron, zinc and β -carotene content. Therefore grain specific carotenes biosynthesis enzymatic system genes investigation bears particular importance, notably *y1* gene investigation.

First important step in carotene biosynthesis pathway is geranylgeranyl pyrophosphate to phytoene conversion via phytoene synthase enzyme. There is

three paralogues of phytoene synthase-coding gene in maize genome, designated as *y1*, *y2* and *y3*. mRNA transcription analysis showed that it is *y1* gene product PSY1 is correlated with carotenes accumulation in endosperm [6, 7].

At 1940 *yellow1* (*y1*) loci, which had gene dosage effect on grain carotene content, was identified [8]. Three copies of dominant *Y1* allele in triploid endosperm caused the most yellow grain (endosperm), whereas *y1* allele caused pale yellow and white grain color [9, 10]. This gene is mapped on long arm of chromosome 6, it contains six exons and five introns (fig. 1)



Fig. 1. Maize *y1* gene structure (black rows are exons and gray bars are introns)

Aim of our research is devoted to the bioinformatics analysis of maize *y1* gene

Materials and methods. 86 maize *y1* gene nucleotide sequences, obtained from National Center for Biotechnology Information (NCBI; www.ncbi.nlm.nih.gov) were used in analysis. Smith — Watermann algorithm [11] was used for *y1* nucleotide sequences search via local alignment with «BLAST» online program. Global alignment via single nucleotides and codon-specific one of promoter region, as well as exon and intron regions was conducted using Needleman — Wunsch algorithm [12] via «MEGA5.2» software within ClustalW and ClustalW (Codons) regime. *In silico* transcription, translation and microsatellites search were performed using «UGENE» software [13]. Translated amino acid sequences tertiary structure modeling were conducted using autonomous protein homology modeling server Swiss-model [14, 15]. Primer design and *in silico* polymerase chain reaction (PCR) were conducted using «FastPCR» software. PCR cycling conditions were optimized according to thermodynamic characteristics of matrix and primers, which were calculated using software mentioned above. Nucleotide sequences secondary structure modeling — either optimal structures with minimal free energy, or suboptimal structures (with comparable to optimal structures level of free energy) was performed according to Zuker algorithm by nearest neighbor parameter [16, 17] via «RNAstructure» software [18]. Probability of such structures was calculated, using statistical sum parameter for system thermodynamic characteristics probability matrix building. Accuracy of predicted structures by this software is 73 % for sequences lesser than 700 bp. *In silico* single strand conformation polymorphism (SSCP) analysis, as well as heteroduplex mobility assay (HMA) were conducted via «UGENE» software. Phylogenetic dendrograms reconstruction was performed using «MEGA 5.2» software by UPGMA method [19, 20], distances are calculated by Maximum Composite Likelihood method, reliability is calculated using bootstrap test [21].

Results and discussion. Maize *y1* gene nucleotide sequences search has been conducted, 86 nucleotide sequences, annotated as *y1* gene have

been found. Sequences found on an average 3614 bp long and contain promoter 568 bp long, six exons (407, 67, 179, 246, 190 and 196 bp) and five introns (85, 587, 900, 93, 96 bp).

As a result of nucleotide alignment *y1* gene polymorphism is evaluated, SNP's and InDel's mutations are identified; majority of them didn't affected enzyme function. Researched sequences homology level estimated 93 %. The most important types of polymorphism, revealed within this gene are caused by the presence of (CCA)_n microsatellite within promoter region and frameshift, which continued after RNA processing but didn't affect enzyme functioning.

Four primer pairs, specific for different gene regions were designed by the results of 86 nucleotide sequences alignment (tab.).

Table

Information on primer pairs designed to *y1* gene

Coding region	Primers pair		Detection of polymorphism
	Name	Sequence (5' — 3') Forward / Reverse	
Promoter — exon 1	y1rkn	ctatgagccgcacacttagc / cccgttgctggcatgtcca	Microsatellite (cca) _n , nucleotides insertion (agt), (ctg), (tc)
Exon 6	y1ex6	tgttgtgtacaggcagatc / ctaggttggctgcgcggctc	Nucleotides insertion (gcctgcaa), (caga), nucleotides deletion (t)
Intron 2	y1in2	ggcgccgcgccatattggcc / gaaacatactagctagtaca	Nucleotides deletion (gt), (t), nucleotides insertion (ctcaact)
Intron 3	y1in3	tccactgatatgacactttt / tcatacagttaccttttgtt	Nucleotides insertion (c), (t), (a), (agtagcaa), (gttatcga), nucleotides deletion (ttcaatgt)

55 complete sequences were chosen for *in silico* PCR analysis. Electrophoresis of obtained amplicons was modeled within 10 % polyacrylamide gel within TBE buffer (Tris-Borate-EDTA). For amplicons length estimation molecular weight marker 25 bp DNA Ladder was used.

Ten polymorphic amplicons were obtained within PCR with *y1rkn* primer, their length was 475–513 bp, *y1ex6* and *y1in2* produced four polymorphic amplicons each, *y1in3* produced seven polymorphic by length amplicons. Thus, by the aim of PCR with designed primers it is possible to detect *y1* gene polymorphism.

Phylogenetic dendrograms were built as result of nucleotide alignment (fig. 2) show presence nucleotide sequence polymorphism, undetectable by conventional PCR due absence of length polymorphism, suggesting that prevailing type of polymorphism, besides offsetting InDel's are SNP's.

For polymorphism detection providing absence of amplicons length polymorphism amplicons modeling in single strand form, as well as in homo- and heteroduplexi form. For *in silico* SSCP and HMA analysis we've chosen amplicons, characteristic for three and more samples.

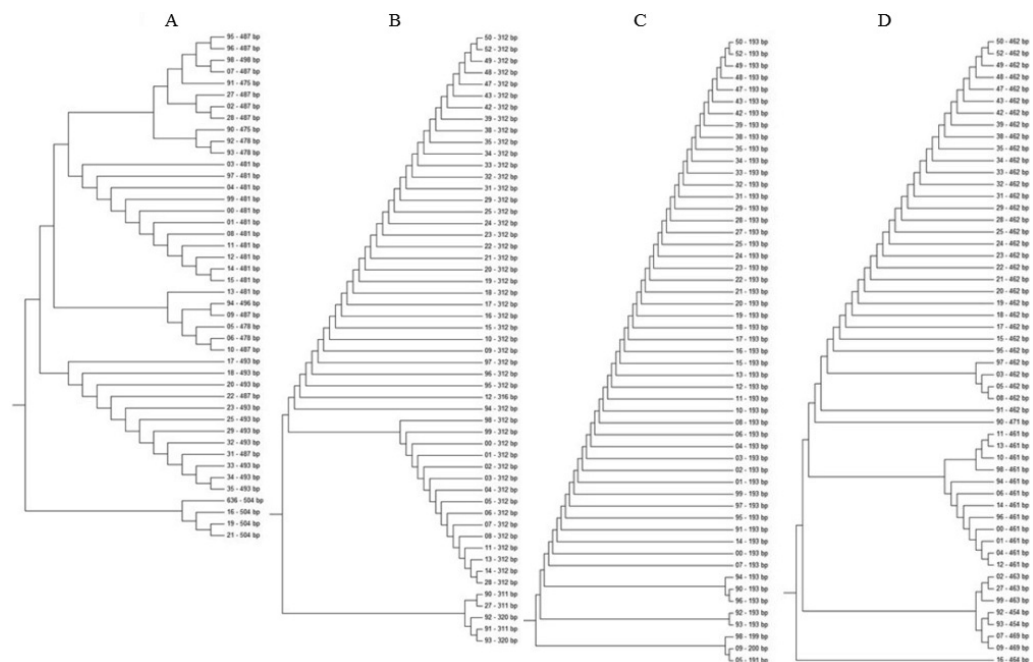


Fig. 2. Dendrograms based on the results of *in silico* PCR primer pairs *y1rkn* (A), *y1ex6* (B), *y1in2* (C), *y1in3* (D)

In result of amplicons modeling in their single strand form (SSCP-analysis) revealed that amplicons 481, 487, 493 and 504 bp long, produced with *y1rkn* primer pair, 311 and 312 bp long, produced with *y1ex6* primer pair and 193 bp amplicon, produced with *y1in2* differed by their conformation, according to their nucleotide sequences. Amplicons, produced with *y1in3* primer pair showed conformation variability within amplicons 461 and 462 bp long, whereas 463 bp long amplicons was not differentiated by this method.

As a result of double stranded structures modeling, which are produced in result of amplicons interaction (homoduplex when same amplicons are interacted and heteroduplex as an result of interaction of amplicons with different sequences) — HMA, conformation variability is detected within all *y1rkn* amplicons except 481 bp long ones. Conformation variability is noted within all amplicons, produced with *y1ex6*, *y1in2* and *y1in3* primer pairs.

Thereby, designed primer pairs are advisable to use with SSCP and HMA methods of PCR analysis because of influence of their amplicons conformation influence on electrophoretic mobility. *In vitro* PCR with designed primer pairs is promising for lines and hybrids screening for their grain total carotene content and particularly β -carotene. Correlation establishment between *y1* gene regions polymorphism and carotene concentration is the base for maize samples differentiation by their grain carotene accumulation ability and molecular marker system creation for further marker assisted selection.

Next step of our bioinformatic analysis was *y1* gene nucleotide sequence polymorphism influence on phytoene synthase enzyme investigation. *In silico*

transcription pre-mRNA processing, codon-specific nucleotide alignment of mature mRNA and translation of obtained mRNA nucleotide sequences were performed. It was revealed that prevailing part of InDel's found are belonging to intronic regions of gene. Most of SNP's and inversions been found in mature mRNA are synonymous and doesn't affect enzyme amino acid sequence and therefore doesn't affect its functionality.

Translated amino acid sequences, particularly enzyme active site homology modeling were performed to establish correlation between mRNA sequence and enzyme functionality. Template for tertiary structure homology modeling was analogous enzyme of *Staphylococcus aureus*, which was the most homologous to maize phytoene synthase among structures, established in Protein Data Bank [22]. Enzyme tertiary structure variability has been noted (fig. 3).

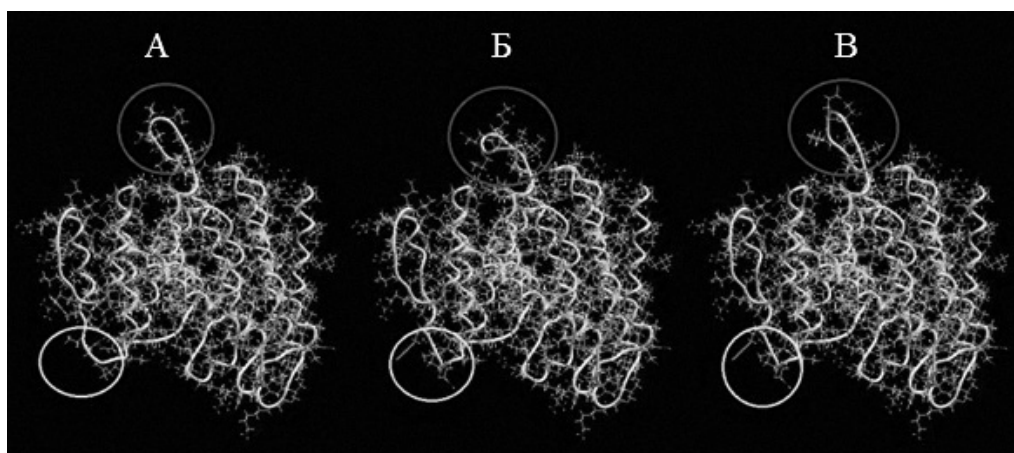


Fig. 3. Samples of the active site of maize samples phytoene synthase ACY70879 (A), obtained from the NCBI database in the form of sequenced amino acid sequence, FJ971190 (B), FJ971231 (B) obtained by means of transmission and the processing *in silico* from nucleotide sequences presented database NCBI. Polymorphic sites marked by circles

Conclusions. Major types of maize *y1* gene polymorphism are SNP's and InDel's, majority of them doesn't affect enzyme functionality. Most important type of polymorphism is caused by presence of $(CCA)_n$ microsatellite within promoter region and further frameshift, which continued after RNA processing, but didn't affect enzyme functionality. Four primer pairs, specific to different *y1* gene regions were designed, their usement in *in silico* PCR, SSCP and HMA analysis enabled to investigate both length and sequence polymorphisms within amplicons.

LIST OF REFERENCES

1. Strable J. Maize (*Zea mays*) a model organism for basic and applied research in plant biology / J. Strable, M. Scanlon // Cold Spring Harbor Protocol. — 2009. — P. 1–9.

2. Llaca V. Genome diversity in maize / V. Llaca, M. Campbell, S. Deschamps // J. Botany. — 2011. — Vol. 2011. — P. 1–10.
3. Schnable P. S. The B73 maize genome complexity, diversity, and dynamics / P. S. Schnable, D. Ware, R. S. Fulton, [et al] // Science. — 2009. — Vol. 326. — P. 1112–1115.
4. Nestel P. Biofortification of staple food crops / P. Nestel, H. Bouis, J. Meenakshi, W. Pfeiffer // J. Nutr. — 2006. — Vol. 136. — P. 1064–1067.
5. Gilligan D. O. Biofortification, agricultural technology adoption, and nutrition policy: some lessons and emerging challenges / D. O. Gilligan // CESifo Economic Studies. — 2012. — Vol. 58, № 2. — P. 405–421.
6. Singh M. Activator mutagenesis of the pink scutellum1/viviparous7 locus of maize / M. Singh, P. E. Lewis, K. Hardeman // Plant Cell. — 2003. — Vol. 15. — P. 874–884.
7. Li F. Carotenoid biosynthesis in maize characterization of the *psy* gene family and genetic definition of a new biosynthetic step in higher plants: Dissertation Ph.D / Faqiang Li. — New York, 2008. — 144 p.
8. Randolph L. Relation between carotenoid content and number of genes per cell in diploid and tetraploid corn / L. Randolph, D. Hand // J. Agric. Res. — 1940. — Vol. 1. — P. 51–64.
9. Brent B. The *y1* gene of maize codes for phytoene synthase / B. Brent, S. M. Philip, J. B. Diane // Genetics. — 1996. — Vol. 143, № 1. — P. 479–488.
10. Gallagher C. E. Gene duplication in the carotenoid biosynthetic pathway preceded evolution of the grasses (*Poaceae*) / C. E. Gallagher, P. D. Matthews, F. Li, E. T. Wurtzel // Plant Physiol. — 2004. — Vol. 135. — P. 1776–1783.
11. Smith S. Identification of common molecular subsequences / S. Smith, M. Waterman // J. Mol. Biol. — 1981. — Vol. 147. — P. 195–197.
12. Needleman S. B. A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins / S. B. Needleman, C. D. Wunsch // J. Mol. Biol. — 1970. — Vol. 48, № 3. — P. 443–453.
13. Okonechnikov K. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit / K. Okonechnikov, O. Golosova, M. Fursov // The UGENE team Bioinformatics. — 2012. — Vol. 28. — P. 1166–1167.
14. Arnold K. The SWISS-MODEL Workspace: A web-based environment for protein structure homology modelling / K. Arnold, L. Bordoli, J. Kopp, T. Schwede // Bioinformatics. — 2006. — Vol. 22. — P. 195–201.
15. Peitsch M. C. Protein modeling by E-mail / M. C. Peitsch // Biotechnology. — 1995. — Vol. 13. — P. 658–660.
16. Zuker M. Optimal computer folding of large RNA sequences using thermodynamics and auxiliary information / M. Zuker, P. Stiegler // Nucleic Acids Res. — 1981. — Vol. 9, № 1. — P. 133–148.
17. SantaLucia J. A unified view of polymer, dumbbell, and oligonucleotide DNA nearest-neighbor thermodynamics / J. SantaLucia // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1998. — Vol. 95, № 4. — P. 1460–1465.
18. Reuter J. S. RNAstructure: software for RNA secondary structure prediction and analysis / J. S. Reuter, D. H. Mathews // BMC Bioinformatics. — 2010. — Vol. 11. — P. 129.
19. Tamura K. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods / K. Tamu-

- ra, D. Peterson, N. Peterson // Mol. Biol. and Evol. — 2011. — Vol. 28, № 10. — P. 2731–2739.
20. Sneath P. Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification / P. Sneath, R. Sokal // San Francisco: Freeman. — 1973. — 573 p.
21. Tamura K. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method / K. Tamura, M. Nei, S. Kumar // Proc. Nat. Acad. Scien. USA. — 2004. — Vol. 101. — P. 11030–11035.
22. Schwede T. SWISS-MODEL: an automated protein homology-modeling server / T. Schwede, N. Guex, M. Peitsch // Nucleic Acids Res. — 2003. — Vol. 31. — P. 3381–3385.

Receive 14.03.2014.

УДК 633.15:577.151:577.212

Жуков Б. С., Сліщук Г. І., Волкова Н. Е.

АНАЛІЗ ГЕНА *У1* У КУКУРУДЗИ МЕТОДАМИ БІОІНФОРМАТИКИ

В результаті дослідження поліморфізму різних регіонів гену *у1* у кукурудзи, що кодує фітоінсинтазу, методами біоінформатики розроблено чотири пари праймерів, ефективність яких доведена за допомогою *in silico* ПЛР. Проведено моделювання продуктів ампліфікації в одноланцюговому стані та у вигляді гомо- і гетеродуплексів. Змодельовано структуру активного центру фітоінсинтази. Визначено поліморфізм довжини і послідовності різних регіонів гену *у1*, пов'язаний з одонуклеотидними замінами, делеціями, інсерціями, зсувом рамки зчитування. Виявлено зміну в конформації третинної структури ферменту.

УДК 633.15:577.151:577.212

Жуков Б. С., Слищук Г. И., Волкова Н. Э.

АНАЛИЗ ГЕНА *У1* У КУКУРУЗЫ МЕТОДАМИ БИОИНФОРМАТИКИ

В результате исследования полиморфизма различных регионов гена *у1* у кукурузы, кодирующего фитоенсинтазу, методами биоинформатики разработаны четыре пары праймеров, эффективность которых доказана с помощью *in silico* ПЦР. Проведено моделирование продуктов амплификации в одноцепочечном состоянии и в виде гомо- и гетеродуплексов. Смоделирована структура активного центра фитоенсинтазы. Определен полиморфизм длины и последовательности различных регионов гена *у1*, связанный с одонуклеотидными заменами, делециями, инсерциями, сдвигом рамки считывания. Выявлено изменение в конформации третичной структуры фермента.

UDC 577.2:57.088:635.64

N. E. VOLKOVA, Dr. Sci. (biol.), p. r. s.
PBGI–NCSCI, Odesa
e-mail: natavolki@ukr.net

TILLING-TECHNOLOGY AND FUNCTIONAL MOLECULAR MARKERS IN TOMATO BREEDING (REVIEW)

The information about the powerful new technology TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) is in the review; the basic procedure and examples of its economically successful using in tomato breeding are described; data on molecular markers of genes / loci related to tomato important agronomic traits are given.

Key words: TILLING-technology, mutagenesis, molecular markers, tomato.

Currently nuclear and organelle genomes nucleotide sequences of many plant species are determined including the tomato genome [1–3]. Now, it is important to use the genome sequence information for cognition the gene functions.

In recent years, new emerging technology — TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) [4, 5] allows systematic functional genomic studies and identification of an allelic series of mutants with a range of modified functions for desired genes [6, 7]. TILLING is a reverse genetic strategy that utilises chemical mutagenesis for inducing variability and sensitive molecular screenings to identify point mutations responsible for phenotype alteration.

Basic TILLING method allows for high-throughput identification of single-base-pair (bp) allelic variations [8]. The first step starts with mutagenized seeds obtained from treatment with chemical mutagen such as Ethyl methanesulfonate (EMS). The resulting M1 plants are selffertilized and the M2 generation of individuals is used to prepare DNA samples for mutational screening. The DNA samples are pooled, arrayed on microtiter plates and subjected to gene-specific polymerase chain reaction (PCR). Amplification products are incubated with an endonuclease such as CELI, a member of the S1 nuclease family of single strand-specific nucleases. CELI cleaves the 3' side of mismatched DNA where the heteroduplex between the wild-type and the mutant strands of DNA loops out; homoduplexes are left intact. Cleavage products are electrophoresed using an automated sequencing gel apparatus, and gel images are analyzed by examining the gel readout with the aid of a standard commercial image-processing program. Differential doubleend labeling of amplification products allows for rapid visual confirmation because mutations

are detected on complementary strands and can be easily distinguished from amplification artifacts. Upon detection of a mutation in a pool, the individual DNA samples are similarly screened to identify the plant carrying the mutation. This rapid screening procedure determines the location of a mutation to within ± 10 bp for PCR products that are 1-kb in size. For mismatch-specific cleavage, several enzymes, including S1 nuclease and T4 endonuclease VII have been used. CELI, a plant-specific extracellular glycoprotein, has been shown to be suitable for genotyping applications because it preferentially cleaves mismatches of all types and has been used to detect heterozygous polymorphisms in DNA pools. Also, plant extracts performed as well as the highly purified preparations. These results suggest that something in the crude sample either enhances the endonuclease activity of these enzymes at heteroduplex sites or inhibits their activity at the amplicon ends. Screening is performed on DNAs that have been arrayed in 96-well microtiter plates and pooled eightfold to maximize screening efficiency. Gene specific, fluorescently tagged primers are used to amplify pooled DNA. The amplification products are denatured and allowed to reanneal, generally by heating and cooling. As a result, a mutant strand will often reanneal with a wild-type strand, creating heteroduplexes at the site of the mutation or polymorphism. The resultant double-stranded products are digested with CELI, which cleaves one of the two strands at the heteroduplex mismatches. Cleaved products, which are detected on polyacrylamide denaturing gels, identify individuals that have a mutation in the gene of interest. The size of the fragments carrying the 5' and 3' fluorescent tags can be used to estimate the position of the mutation within the amplicon (fig.).

So, TILLING is a method that allows directed identification of mutations in a specific gene and combines a standard and efficient technique of mutagenesis with a chemical mutagen with a sensitive DNA screening-technique that identifies single base mutations (also called point mutations) in a target gene. The only prerequisite for its application is the knowledge of the gene nucleotide sequences.

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.), ranking first in the world for vegetables, is important crop with numerous uses as fresh and processed produce and with a high nutritional value. It is also acknowledged model specie for research on fruit development and metabolite accumulation. For major goals of tomato breeders (higher productivity, better tolerance to biotic and abiotic stresses and increased sensory and health value of the fruit) targeted mutations in genes connected to traits of interest creating knockouts or modified activities may provide useful material.

For tomato some mutant populations are created on different genetic background: EMS and fast-neutron mutant populations — cultivar «M82» [10]; EMS population — cultivar «Red Setter» [11]; EMS population — cultivar «TPAADA-SU» [12]; EMS and γ -ray-irradiated populations — cultivar «Micro-Tom» [13]; EMS populations — cultivars 'Best Of All' and 'Money Maker' [14]; EMS and N-methyl-N-nitrosourea (MNU) populations — cultivar «Heinz 1706» [15].

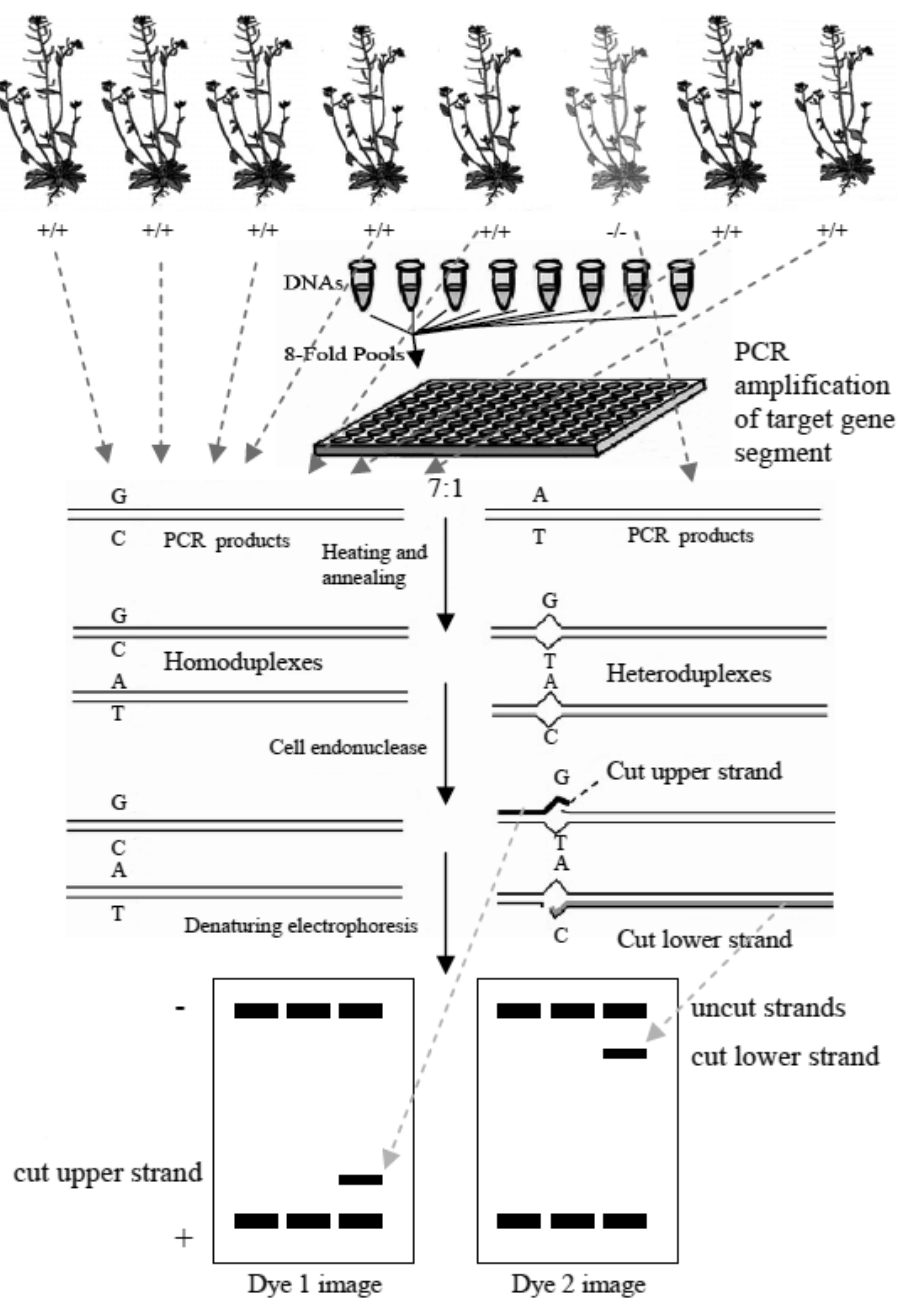


Fig. Schematic diagram of TILLING method [9]

In tomato, four independent TILLING platforms that consist of variety of genetic backgrounds (i.e., M82, Micro-Tom, Red Setter and TPAADASU) have been developed by different groups.

M82 TILLING platform — 4759 M3 families mutagenised at 0,7 % EMS. More than 80 genes screened (eIF4E, DET1, COP1-like, DDB1a, COP10, NAM, ACO1, E8, DHS, Rab11a, PG, MET1, Exp1 CRTISO, CUL4 etc). Mutation frequency — 1/574 kb. Phenotypic database was developed [16].

TPAADASU TILLING platform — 8225 mutant lines treated with 1,0 % EMS. Mutation frequency — 1/737 kb. Screened gene — ARF7, ProDH, PSY1, Sus2.

Red Setter TILLING platform. To apply TILLING to tomato, a new mutant collection was generated in the genetic background of the processing tomato cultivar Red Setter by treating seeds with two different EMS doses (0,7 % and 1,0 %, mutation frequency — 1/574 kb, 1/322 kb). An associated phenotype database, LycoTILL, was developed [17] and a TILLING platform was also established. The interactive and evolving database is available online to the community for phenotypic alteration inquiries. To validate the Red Setter TILLING platform, induced point mutations were searched in 7 tomato genes, involved in fruit quality traits, with the mismatch-specific ENDO1 nuclease: ripening-inhibitor (RIN) and green ripe (Gr) genes involved in the ripening of tomato fruit, rab11 GTPase (Rab11a) and expansin 1 (Exp1) genes related to the tomato softening control, polygalacturonase (PG) gene involved in the cell wall hydrolysis, and lycopene beta cyclase (Lcy-b) and lycopene epsilon cyclase (Lcy-e) involved in the carotenoid biosynthesis pathway. In total 9.5 kb of tomato genome were screened and 66 nucleotide substitutions were identified. The overall mutation density was estimated and it resulted to be 1/322 kb and 1/574 kb for the 1,0 and 0,7 % EMS treatment respectively. Comparison of this collection mutation density with other TILLING populations demonstrates that the Red Setter genetic resource is suitable for use in high-throughput mutation discovery.

Micro-Tom TILLING platform. DNA pools were constructed from 3052 mutant lines treated with 0,5 or 1,0 % EMS. The mutation frequency was calculated by screening 10 genes. The 0,5 % EMS population had a mild mutation frequency of one mutation per 1710 kb, whereas the 1,0 % EMS population had a frequency of one mutation per 737 kb, a frequency suitable for producing an allelic series of mutations in the target genes. The overall mutation frequency was one mutation per 1237 kb, which affected an average of three alleles per kilobase screened. To assess whether a Micro-Tom TILLING platform could be used for efficient mutant isolation, six ethylene receptor genes in tomato (SlETR1–SlETR6) were screened. Two allelic mutants of SlETR1 (Sletr1–1 and Sletr1–2) that resulted in reduced ethylene responses were identified, indicating that our Micro-Tom TILLING platform provides a powerful tool for the rapid detection of mutations in an EMS mutant library. This work provides a practical and publicly accessible tool for the study of fruit biology and for obtaining novel genetic material that can be used to improve important agronomic traits in tomato.

Using TILLING, Arcadia Biosciences has generated 220 induced mutations in 19 tomato genes implicated in fruit shelf life [18]. These shelf life genes represent many functional protein classes, including cell wall disassembly enzymes. One such gene is the cell wall enzyme, expansin. Antisense reduction of the tomato expansin EXP1 gene increases fruit firmness, reduced biomass

accumulated a fungal pathogen, *Botrytis cinerea* when expansin expression is suppressed. TILLING was used to identify 9 SNPs in our mutagenized library, including 2 nonsense and 7 missense mutations. Early results show increased fruit firmness in a knockout expansin line, similar to the results seen in the transgenic antisense expansin line.

The characterization of natural recessive resistance genes and *Arabidopsis* virus-resistant mutants have implicated translation initiation factors of the eIF4E and eIF4G families as susceptibility factors required for virus infection and resistance function. To investigate further the role of translation initiation factors in virus resistance Piron et al. [19] set up a TILLING platform in tomato, cloned genes encoding for translation initiation factors eIF4E and eIF4G and screened for induced mutations that lead to virus resistance. A splicing mutant of the eukaryotic translation initiation factor, S.I_eIF4E1 G1485A, was identified and characterized with respect to cap binding activity and resistance spectrum. Molecular analysis of the transcript of the mutant form showed that both the second and the third exons were miss-spliced, leading to a truncated mRNA. The resulting truncated eIF4E1 protein is also impaired in cap-binding activity. The mutant line had no growth defect, likely because of functional redundancy with others eIF4E isoforms. When infected with different potyviruses, the mutant line was immune to two strains of *Potato virus Y* and *Pepper mottle virus* and susceptible to *Tobacco etch virus*. Mutation analysis of translation initiation factors shows that translation initiation factors of the eIF4E family are determinants of plant susceptibility to RNA viruses and viruses have adopted strategies to use different isoforms.

TILLING has been applied to produce a series of mutations in genes encoding essential components of the tomato light signal transduction pathway in an attempt to enhance fruit nutritional quality [20]. Point mutations to DEET-IOLATED 1 (DET1), which is responsible for the high pigment2 (*hp2*) tomato mutant, resulted in elevated levels of both carotenoid and phenylpropanoid phytonutrients in ripe fruit, whilst immature fruit showed increased chlorophyll content, photosynthetic capacity and altered fruit morphology. Furthermore, genotypes with mutations to the UV-DAMAGED DNA BINDING PROTEIN 1, CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1 (COP1) and COP1like were also characterised. These genotypes largely did not display phenotypes characteristic of mutation to light signalling components but their characterisation has enabled interrogation of structure function relationships of the mutated genes.

So, the strength and potency of TILLING strategy has been validated by its successful application in both animals and plants, including tomato. Induced mutations can then be used as molecular markers to rapidly introgress the trait into any cultivar. TILLING can reveal potentially useful mutations for molecular breeding, inferring introgression lineage or identifying haplotypes.

Molecular markers. Genetic collections creation, identification and preservation have great importance for improving the efficiency of breeding

and genetic research. The tomato mutant forms collections is unique tool for solving theoretical and practical problems of breeding (range of genetic variation available, development of methods of gamete (pollen) selection for resistance to abiotic and biotic environment factors, introduction into breeding lines of genes controlling economically valuable traits etc) [21].

Modern plant breeding process combines methods of molecular genetics and traditional selection techniques. Marker assisted selection (MAS) is selection of organisms for traits of interest, such as color, meat quality, or disease resistance, by indirect analysis of genes that control traits of interest with molecular markers. Since 1980s molecular markers are being widely used as a principal tool for breeding of many crops, among these — tomato. Gene pyramiding is a useful approach to maximize utilization of existing gene resources. MAS is an effective approach for pyramiding genes or quantitative trait loci (QTLs) from different sources and for different traits into elite germplasm.

Molecular markers have been used extensively for genetic mapping as well as identification and characterization of genes and QTLs for many agriculturally important traits in tomato. Identified and mapped tomato genes and QTLs can be divided into several groups: — disease (fungal, bacterial, viral, and nematode) and insect resistance genes and QTLs; — abiotic stress resistance genes and QTLs (salt tolerance, cold tolerance (low temperature), drought tolerance); — genes and QTLs for flower- and fruit-related characteristics (fruit size, fruit shape, fruit color, fruit soluble solids, fruit yield, fruit ripening). Summary of most genes and QTLs which have been identified and mapped in tomato chromosomes during the past two decades is presented in review article [22].

Different types of molecular markers such as RFLPs, AFLPs, SSRs, CAPS, RGAs, ESTs, SNPs and COSs have been developed and mapped onto the 12 tomato chromosomes. The expanding tomato EST database, the new microarray DNA chips, and the genome sequence data are expected to aid development of more practical markers. Several BAC libraries have been developed that facilitate map-based cloning of genes and QTLs. Sequencing of the euchromatic portions of the tomato genome is paving the way for comparative and functional analysis of important genes and QTLs.

Functional PCR-markers make it possible to diagnose the allele structure of studied forms at different stages of development that accelerates the selection process and increases its efficiency. Known traits for which marker-assisted selection and breeding are done in tomato.

Molecular markers linked to disease resistance gene. More 40 genes (including many single genes and QTLs) that confer resistance to all major classes of plant pathogens have been mapped on the tomato molecular map. In the early 1980s, many tomato seed companies took advantage of the reported linkage association between nematode resistance and *Aps-1* locus [23] and used the *Aps* marker for selecting for nematode resistance. Now

marker-assisted selection and breeding are done in tomato for such pathogen resistance traits: bacterial canker — 3 QTLs, *Rcm2.0*, *Rcm5.1*, bacterial speck — *Pto*, bacterial spot — *Rx-3*, bacterial wilt — 2 QTLs, blackmold — few QTLs, corky root rot — *Py-1*, Fusarium wilt — *I-2C*, *I-3*, late blight — *Ph-3*, 4 QTLs, powdery mildew — *Lv*, *Ol-1*, *Ol-2*, root-knot nematode — *Mi*, Tomato spotted wilt virus — *Sw-5*, Tomato yellow leaf curl virus — few QTLs, Tobacco mosaic virus — *Tm-2a*, Verticillium wilt — *Ve*. Genotyping tests are developed for tomato pathogen resistance trait by markers: *Tm-2(a)* for Tobacco mosaic virus, *Mi-1* and *Mi-23* for *Meloidogyne* spp. Nematode (root knot), *I-2* and *I-3* for *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* Fusarium wilt, races 2 and 3, *SW-5* for Tomato spotted wilt virus, *Cf-23* for *Cladosporium fulvum* Leaf mould, *Ve* for *Verticillium* Verticillium wilt, *Pto* for *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato* (*Pst*) Bacterial speck, *Ty-1* and *Ty-3* for Tomato yellow leaf curl virus, *Lv* for *Leveillula taurica* Powdery mildew, *Py-1* for *Pyrenochaeta lycopersici* Corky root rot.

Publically-available molecular markers for major disease resistance traits in tomato and assess their current and potential use in public and private tomato breeding programs are presented in review [24]. The review indicated that although markers have been identified for most disease resistance traits in tomato, not all of them have been verified or are readily applicable in breeding programs. For example, many markers are not validated across tomato genotypes or are not polymorphic within tomato breeding populations, thus greatly reducing their utility in crop improvement programs. Authors discuss markers actual use in tomato breeding programs; many of the available markers may need to be further refined or examined for trait association and presence of polymorphism in breeding populations. However, with the recent advances in tomato genome and transcriptome sequencing, it is becoming increasingly possible to develop new and more informative PCR-based markers, including single nucleotide polymorphisms (SNPs), to further facilitate the use of markers in tomato breeding. It is also expected that more markers will become available via the emerging technology of genotyping by sequencing.

Molecular markers are using for identification of pathogens resistance genes alleles/variants that induced by mutagenesis. Different mutagenesis methods (EMS-chemical, fast neutrons, transposons, T-DNA) induce point mutations, deletions, insertions. In reverse genetics screens, a target gene is chosen and the mutant population is screened for mutation in this gene using the appropriate detection methods [25–28].

Molecular markers of abiotic stress resistance genes and QTLs.

In tomato significant efforts have been devoted to identification and mapping of QTLs conferring tolerance to environmental stresses such as salinity, drought and low temperatures, and less research has been conducted on other stresses, including high temperatures. Some QTLs (3–10) have been identified for salt, cold, drought tolerance during seed germination, vegetative growth and later stages in tomato for such traits: root ammonium uptake,

water use efficiency, shoot wilting, ion accumulation etc. It was found that some genes affect tomato seed germination under different stress conditions while other genes are more specific.

Molecular markers of genes controlling the fruits quality. Molecular markers have been used to map genes or QTLs for many flower- and fruit-related characteristics in tomato, including exerted stigma, petal and sepal characters, fruit size, shape, color, soluble solids content, pH, lycopene, acidity, flavor, ripening and others.

Such genes / QTLs identified for traits: fruits ripening — *rin* (ripening inhibitor), *nor* (non-ripening), *nor4* (alcobaca); growth habit — *sp* (self pruning); carotenoid biosynthesis — *B* (β -carotene), *og* (old-gold), *ogc* (old-gold crimson), *t* (tangerine). Genes *lp*, *hp*, *hp-1*, *hp-1w*, *hp-2*, *hp-2j*, *hp-2dg*, *dg* associated with increased levels of carotenoids, *r*, *at*, *sh* — with low content of carotenoids, *Del*, *B*, *t*, *gs* alter the composition and the ratio of carotenoids. Traditional genetic studies had identified several genes controlling fruit shape in tomato such as *pr* (pyriform), *o* (ovate), *bk* (beaked tomato), *n* (nipple-tip tomato), *f* (fasciated), *lc* (for locule number). Also genes or QTLs for numerous other flower- and fruitrelated characteristics — self incompatibility, unilateral incongruity, transgressive segregation, selfpruning (determinate type plants), jointless pedicel, seed size and number — have been identified. Genes and QTLs that have been identified and/or mapped on tomato chromosomes for such characteristics summarizes in Foolad's review [22].

For example, 45 tomato cultivars and breeding lines collection was studied for presence of mutant alleles of the genes *B*, *og*, *ogc*, *t*, determining carotenoid biosynthesis; *rin*, *nor*, *nor4*, determining fruits ripening; *sp*, determining growth habit with application of functional PCR-based markers [29]. Based on results of DNA-genotyping, the accessions carrying valuable alleles were selected and further used for introduction to breeding process. On the basis of realized studies there was studied the identification of allelic composition of genes controlling the biosynthesis of carotenoids and fruit ripening. A comprehensive, multi-generation, allele test suggests that the tomato mutations dark-green (*dg*) and high pigment 2(j) (*hp-2j*) are allelic [30]. The *hp-2(j)* mutant is caused by a mutation in the tomato homolog of the DET1 gene, involved in the signal transduction cascade of light perception and morphogenesis. DET1 locus polymorphism was used to develop PCR-based DNA marker, which enables an early genotypic selection for breeding lycopene-rich tomatoes. The results strongly support the hypothesis that tomato *dg* mutation is a novel allele of the tomato homolog of the DET1 gene.

Molecular markers of genes / QTLs for other flower- and fruitrelated traits. Genes and QTLs have been identified for numerous other flower- and fruitrelated characteristics as well as traits such as self incompatibility, unilateral incongruity, transgressive segregation, selfpruning (determinate type plants), male sterility, jointless pedicel. QTLs mapped for such traits branch, bud type, curly leaf, days to emergence, to first flower, to first ripe

fruit, to third leaf, for 'flower' — number/plant, number/truss, node number, for «leaf» — length, for «leaflet» — apex angle, distance/length ratio, length, number, surface area, width, width/ length ratio; node number; for «plant» — cover, fresh mass, growth habit, height; for «seed» — number, weight, size. Such, genotype *pistillate* (*pi*) was characterized that directly recalls mutations affecting class B MADS-box genes [31]. *pi* mutation deserves a particular interest, producing four-whorled, although modified, flowers useful to study the functional linkage between flower induction and flower organ identity specification. The recessive mutation *ps-2*, which appeared spontaneously in tomato, confers functional male sterility due to non-dehiscent anthers. *PS-2* gene was isolated and characterized [32]. This is the first functional sterility gene isolated in the *Solanaceae* family. The role of *Lanceolata* gene mutation in leaf forming with tomato-plants has been investigated [33]. Connections between endogenous hormones content in leaves of various tiers, differing in leaf division level have been discussed.

So, using the latest achievements in fields of genetics, molecular biology and biotechnology, breeders can create new varieties with improved useful traits. Introduction of DNA markers, especially those PCR-based has led to breakthrough in the plants genetic research, including tomato. They are successfully used for plant genomes mapping, phylogenetics studies, selection of parental forms in plant breeding, and above all to identify the genes of important traits. For tomato have been identified and mapped 9309 molecular markers [34]. High-density genetic maps development gives an opportunity to use them in genetic research and breeding programs. Identification of DNA markers closely linked to studied gene can significantly facilitate the identification of desirable traits in material breeding, or accelerate the plants selection for elimination of genotypes with undesirable genes [35]. Material breeding selection using molecular markers, defined as MAS is increasingly being used in tomato breeding programs, contributing to facilitated identification of genes or QTLs and their transfer into the cultivated species from wild form.

LIST OF REFERENCES

1. Mueller L. The SOL Genomics Network: a comparative resource for *Solanaceae* biology and beyond / L. Mueller, T. Solow, N. Taylor [et al.] // Plant Physiol. — 2005. — Vol. 138. — P. 1310–1317.
2. Mueller L. The Tomato Sequencing Project, the first cornerstone of the International Solanaceae Project (SOL) / L. Mueller, S. Tanksley, J. Giovannoni [et al.] // Comp. Funct. Genomics. — 2005. — Vol. 6. — P. 153–158.
3. Mueller L. A snapshot of the emerging tomato genome sequence / L. Mueller, R. Lankhorst, S. Tanksley [et al.] // Plant Genome. — 2009. — Vol. 2. — P. 78–92.
4. McCallum C. Targeting induced local lesions in genomes (TILLING) for plant functional genomics / C. McCallum, L. Comai, E. Greene [et al.] // Plant Physiol. — 2000. — Vol. 123. — P. 439–442.
5. Colbert T. High-throughput screening for induced point mutations / T. Colbert, B. Till, R. Tompa [et al.] // Plant Physiol. — 2001. — Vol. 126. — P. 480–484.

6. McCallum C. Targeted screening for induced mutations / C. McCallum, L. Comai, E. Greene [et al.] // *Nat. Biotechnol.* — 2000. — Vol. 18. — P. 455–457.
7. Comai L. TILLING: practical single-nucleotide mutation discovery / L. Comai, S. Henikoff // *Plant J.* — 2006. — Vol. 45. — P. 684–694.
8. Silme R. TILLING (Targeting Induced Local Lesions In Genomes) technology for plant functional genomics / R. Silme, I. Cağirgan // *J. Appl. Biol. Sci.* — 2007. — Vol. 1, Issue 1. — P. 77–80.
9. Henikoff S. Single-nucleotide mutations for plant functional genomics / S. Henikoff, L. Comai // *Annual Reviews of Plant Biology.* — 2003. — Vol. 54. — P. 375–401.
10. Menda N. *In silico* screening of a saturated mutation library of tomato / N. Menda, Y. Semel, D. Peled [et al.] // *Plant J.* — 2004. — Vol. 38. — P. 861–872.
11. Minoia S. A new mutant genetic resource for tomato crop improvement by TILLING technology / S. Minoia, A. Petrozza, O. D’Onofrio [et al.] // *BMC Res Notes.* — 2010. — Vol. 3, Issue 69. — 8 p.
12. Gady A. Implementation of two high through-put techniques in a novel application: detecting point mutations in large EMS mutated plant populations / A. Gady, F. Hermans, M. Wal Van de [et al.] // *Plant Methods.* — 2009. — Vol. 5. — P. 13.
13. Okabe Y. Updating the Micro-Tom TILLING platform / Y. Okabe, T. Ariizumi, H. Ezura // *Breed Sci.* — 2013. — Vol. 63, Issue 1. — P. 42–48.
14. <http://www-urgv.versailles.inra.fr/tilling/tomato.htm>.
15. http://tilling.ucdavis.edu/index.php/Tomato_Tilling.
16. <http://zamir.sgn.cornell.edu/mutants/>.
17. <http://www.agrobios.it/tilling/#>.
18. Loeffler D. TILLING and Eco-TILLING the tomato expansin EXP1 gene / D. Loeffler, S. Hurst, C. McGuire [et al.] // *Materials of Symposium of American Society of Plant Biologists*, June 26 — July 1, 2008, Mérida, Mexico. — 2008. — P. 06011.
19. Piron F. An induced mutation in tomato eIF4E leads to immunity to two potyviruses / F. Piron, M. Nicolai, S. Minoia [et al.] // *PLoS One.* — 2010. — Vol. 5, Issue 6: e11313.
20. Jones M. Characterisation of alleles of tomato light signalling genes generated by TILLING / M. Jones, F. Piron-Prunier, F. Marcel [et al.] // *Phytochem.* — 2012. — Vol. 79. — P. 78–86.
21. Бочарникова Н. И. Мутантный генофонд томата и его использование в селекционно-генетических исследованиях / Н. И. Бочарникова // *Вестник ВОГиС.* — 2008. — Т. 12, № 4. — С. 644–653.
22. Foolad M. Genome mapping and molecular breeding of tomato / M. Foolad // *Int. J. Plant Genomics.* — 2007. — Vol. 2007. — ID 64358. — 52 p.
23. Medina-Filho H. Linkage of *Aps-1*, *Mi* and other markers on chromosome 6 / H. Medina-Filho // *Report of Tomato Genetics Cooperative.* — 1980. — Vol. 30. — P. 26–28.
24. Foolad M. Marker-Assisted Selection in Tomato Breeding / M. Foolad, D. Panthee // *Crit. Rev. in Plant Sci.* — 2012. — Vol. 31, Issue 2. — P. 93–123.
25. Emmanuel E. Tomato mutants as tools for functional genomics / E. Emmanuel, A. Levy // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2002. — Vol. 5, Issue 2. — P. 112–117.
26. Taylor K. Tomato TFT1 is required for PAMP-triggered immunity and mutations that prevent T3S effector XopN from binding to TFT1 attenuate *Xanthomonas*

- virulence / K. Taylor, J. Kim, X. Su [et al.] // PLoS Pathog. — 2012. — Vol. 8, issue 6: e1002768.
27. Wulff B. Genetic variation at the tomato Cf-4/Cf-9 locus induced by EMS mutagenesis and intralocus recombination / B. Wulff, C. Thomas, M. Parniske [et al.] // Genetics. — 2004. — Vol. 167. — P. 459–470.
28. Kang J. The Tomato odorless-2 mutant is defective in trichome-based production of diverse specialized metabolites and broad-spectrum resistance to insect herbivores / J. Kang, G. Liu, F. Shi [et al.] // Plant Physiol. — 2010. — Vol. 154. — P. 262–272.
29. Adzhieva V. Identification of allelic composition of genes determining the carotenoid biosynthesis and fruit ripening of tomato (*Solanum lycopersicum*) genotypes by means of application of functional PCR markers / V. Adzhieva, S. Malyshev, N. Nekrashevich [et al.] // Proc. NAS of Belarus. Biol. Series. — 2010. — N 3. — P. 39–45.
30. Levin I. The tomato dark green mutation is a novel allele of the tomato homolog of the DEETIOLATED1 gene / I. Levin, P. Frankel, N. Gilboa [et al.] // Theor. Appl. Genet. — 2003. — Vol. 106, Issue 3. — P. 454–460.
31. Olimpieri I. Phenotypic and genetic characterization of the *pistillate* mutation in tomato / I. Olimpieri, A. Mazzucato // Theor. Appl. Genet. — 2008. — Vol. 118, Issue 1. — P. 151–163.
32. Gorguet B. *ps-2*, the gene responsible for functional sterility in tomato, due to non-dehiscent anthers, is the result of a mutation in a novel polygalacturonase gene / B. Gorguet, D. Schipper, A. van Lammeren [et al.] // Theor. Appl. Genet. — 2009. — Vol. 118, Issue 6. — P. 1199–1209.
33. Милюкова Н. А. Роль мутации *Lanceolata* в формировании листа томата / Н. А. Милюкова, И. В. Скоробогатова, А. О. Чикало [и др.] // Известия ТСХА. — 2008. — № 3. — С. 72–80.
34. Szczechura W. Tomato molecular markers / W. Szczechura, M. Staniaszek, H. Habdas // Vegetable crops research bulletin. — 2011. — Vol. 74. — P. 5–23.
35. The Tomato Genome Consortium. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution // Nature. — 2012. — Vol. 485. — P. 635–641.

Receive 14.03.2014.

УДК 577.2 : 57.088 : 635.64

Волкова Н. Е.

TILLING-ТЕХНОЛОГІЯ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ МОЛЕКУЛЯРНІ МАРКЕРИ В СЕЛЕКЦІЇ ТОМАТА (огляд)

В огляді подається інформація щодо нової потужної технології спрямованих індукованих локальних змін у геномах — TILLING-технологія (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes), описана базова процедура, наведені приклади її економічно успішного використання в селекції томата; вміщені також дані щодо молекулярних маркерів генів/локусів, пов'язаних з важливими агрономічними ознаками томата.

УДК 577.2 : 57.088 : 635.64

Волкова Н. Э.

**TILLING-ТЕХНОЛОГИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ
МАРКЕРЫ В СЕЛЕКЦИИ ТОМАТА (обзор)**

В обзоре представлена информация о новой мощной технологии направленных индуцированных локальных изменений в геномах — TILLING- технология (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes), описана базовая процедура, приведены примеры ее экономически успешного использования в селекции томата, а также представлены данные о молекулярных маркерах генов/локусов, связанных с важными агрономическими признаками томата.

УДК 634.8:581.167:631.532

О. М. КАРАСТАН, н. с.,

Н. А. МУЛЮКІНА, д. с.-г. н., зав. від.,

Г. В. ПЛАЧИНДА, м. н. с.,

О. С. ПАПІНА, м. н. с.,

ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова»

e-mail: olga_tashoglo@ukr.net

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ПОХОДЖЕННЯ БЕЗНАСІННЄВИХ СОРТІВ ВИНОГРАДУ З КОЛЕКЦІЇ ННЦ «ІНСТИТУТ ВИНОГРАДАРСТВА І ВИНОРОБСТВА ІМ. В. Є. ТАІРОВА»

Отримали алельні характеристики для дев'яти мікросателітних локусів (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, ZAG79 та ZAG62) безнасінневих сортів винограду з колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова». Підтверджене походження сортів Інтерлейкін, Мечта, Кишмиш ОСГІ, Ромулус, Рушакі та спростована наявність відносин «нащадок — батьківський сорт» між сортами Белградський безнасінневий та Дим'ят.

Ключові слова: мікросателітний аналіз, SSR, виноград, безнасіннєвість.

Вступ. Динамічний розвиток споживчого ринку постійно потребує нових сортів винограду із поліпшеними характеристиками якості та товарності. Зокрема, збільшується попит на безнасінневі сорти, оскільки наявність насіння у ягодах впливає на вибір споживача [1]. Давні та більшість сучасних таких сортів мають відносно невеликий розмір ягід, що погіршує товарний вигляд продукції та зумовлює помірну урожайність [2], тому головним пріоритетом сучасної селекції винограду за ознакою безнасінневості є створення крупноплідних сортів та ще й ранньострокових за досяганням.

Селекційний процес за класичними методами потребує значних матеріальних вкладень, праці та часу через тривалу ювенільну фазу рослин та низький відсоток вищеплення безнасінневих генотипів у гібридних популяціях. Залучення нових технологій та методів, таких як відновлення ембріону (*embryo rescue*) в умовах *in vitro* та використання молекулярних маркерів ДНК на ранніх етапах розвитку рослин, дозволяє значно підвищити ефективність та скоротити тривалість добору за ознакою безнасінневості [3].

Маркер-супутний добір (*Marker assisted selection* — добір за допомогою маркерів) — відносно нова технологія, що дає можливість оцінювати гібридний матеріал та добирати бажані генотипи на стадіях ювенільно-

го розвитку рослин, «виграючи» при цьому від 2 до 4 років у процесі виведення сорту [3]. Обов'язковою умовою застосування такого добору є точна ідентифікація рослин-донорів ознаки безнасіненності, оскільки внаслідок близькоспоріднених схрещувань виникає фенотипова подібність та існує велика кількість синонімічних назв (від 10 до 15 тисяч), серед яких лише близько 5 тисяч власне сортів [4].

Серед усіх існуючих молекулярних маркерів послідовності мікросателітів виявилися одними з найбільш зручних та ефективних для дослідження винограду [5–12], і в різних країнах були розроблені сотні мікросателітних маркерів, більшість із яких знаходяться у відкритому доступі [13–19].

Завдяки економічному та культурному значенню, а також відносно невеликому розміру (467,5 Мб) генома виноград став однією з перших сільськогосподарських культур, для яких була секвенована [20, 21] послідовність ядерного генома. Дослідники виявили 30434 генів, що склали біля 43 % ДНК, при цьому значущі послідовності становили лише 6,3 % (33,6 Мб).

Серед повторюваних послідовностей були знайдені 73853 мікросателіти з довжиною мотиву від 2 до 8 п.о., що склали 1,8 Мб генома винограду. Незважаючи на значну кількість мікросателітних локусів, більшість з них не відповідають нормам [23] щодо властивостей мікросателітних маркерів та непридатні для створення праймерних пар. На сьогоднішній день на різних напрямках дослідження винограду використовуються загалом близько 400 мікросателітних маркерів, серед яких дев'ять (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62, ZAG79, VVMD25, VVMD28 та VVMD32) рекомендовані як стандартний ряд для ідентифікації сортів винограду [17, 23].

Інформація щодо алельних характеристик за мікросателітними локусами створює матеріал для подальших досліджень генетичного різноманіття в популяціях винограду, оцінки та використання існуючих колекцій сортів, оптимізації селекційного процесу шляхом маркер-супутнього добору, аналізу родоводів давніх сортів та ін.

Мета роботи: мікросателітний аналіз безнасіневих сортів винограду для виявлення їхньої ідентичності за походженням.

Матеріали та методи. Рослинний матеріал: сорти винограду з колекції нашого інституту — Белградський безнасіневий, Кишмиш ОСГІ, Мечта, Рушакі, Русалка 1, Русалка 3, Флейм сідлс, Інтерлейкін, Ромулус. ДНК виділяли із замороженого (-20 °C) листового матеріалу з використанням комерційного набору DNA Plant Kit (QIAGEN) за методикою виробника. Якість та кількість виділеної ДНК оцінювали електрофорезом у 0,8 %-му агарозному гелі.

ПЛР проводили із використанням 9 мікросателітних маркерів: VVS2, ZAG62, ZAG79, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD25, VVMD32. Капілярний електрофорез продуктів ПЛР (полімеразна ланцюгова реакція)

здійснювали на аналізаторі ДНК ABI Prizm 310 (Applied Biosystems). Розміри алелів мікросателітних фрагментів визначали за допомогою стандарту молекулярної маси ABI LIZ та комп'ютерної програми Gene Mapper 4.0.

Інформація щодо походження досліджуваних безнасінневих сортів (табл. 1) колекції інституту була залучена з європейської бази даних Vitis International Varieties Catalogue (VIVC) [24].

Таблиця 1

Походження досліджуваних безнасінневих сортів винограду

Сорт	Походження	Країна походження
Кишмиш ОСГІ	Чауш рожевий х Кишмиш чорний	Україна
Мечта	Чауш рожевий х Кишмиш чорний	Україна
Русалка 1	гібрид (Чауш рожевий х Італія) х Недельчев Магватлана (Султаніна х Італія)	Болгарія
Русалка 3	Мірний (Катта Курган х Победа) х Недельчев Магватлана	Болгарія
Флейм сидлс	гібрид (Кардинал х Султаніна) х (гібрид (Ред Малага х Тіфафіхі Ахмер) х гібрид (Мускат александрійський х Султаніна))	США
Інтерлейкін	Султаніна х Онтаріо	США
Ромулус	Султаніна х Онтаріо	США
Белградський безнасінневий	Дим'ят х суміш пилку	Сербія
Рушакі	Султаніна х Мхалі	Вірменія

Результати дослідження та обговорення. В роботі наведені результати мікросателітного аналізу 9 сортів з колекції (табл. 2).

Сорти Каберне Совіньон та Шардоне були використані як референтні з метою порівняння отриманих алельних характеристик з результатами генотипування в інших лабораторіях.

Для аналізу ймовірного батьківства алельні характеристики за окремими локусами трьох сортів (Кишмиш чорний, Султаніна та Дим'ят) були залучені з літературних джерел європейського Каталогу сортів «Vitis» [24] та італійської бази мікросателітних профілів Grapevine Microsatellite Collection (GMC) [25].

Згідно з VIVC, для сорту Белградський безнасінневий батьківським є болгарський сорт Дим'ят. Визначені нами алельні характеристики сорту Белградський безнасінневий повністю узгоджуються з даними, раніше отриманими Bergamini C. та ін. [26].

Порівняльний аналіз мікросателітних профілів сортів Белградський безнасінневий та Дим'ят показав відсутність спільних алелів у трьох (VVS2, VVMD5, ZAG79) із шести досліджених локусів, що дозволяє говорити про відсутність родинних зв'язків між зазначеними сортами. Разом із тим Белградський безнасінневий виявив спільні алелі у кожному з дев'яти досліджених локусів із сортом української селекції Мечта. Відповідно до

європейської бази даних «Vitis», рік гібридизації батьківських форм сорту Белградський безнасіньвий — 1972, а сорту Мечта — 1959, що свідчить про можливість існування у них родинних зв'язків. У подальшому для підтвердження або спростування походження Белградського безнасіньвого від сорту Мечта будуть отримані алельні характеристики за розширеною панеллю мікросателітних локусів (загалом до 20 маркерів).

Генетичні характеристики вірменського сорту Рушакі відповідають раніше опублікованим [27] та показали 61,1 % (11 з 18) однакових алелів із сортом Султаніна. Мікросателітний профіль сорту Мхалі не був використаний через відсутність у відкритих літературних джерелах.

Отримані нами алельні характеристики болгарських безнасіньвих сортів Русалка 1 та Русалка 3 повністю співпадають із генотипами, виявленими у 2004 році болгарськими дослідниками [28]. Аналіз походження даних сортів не був проведений через відсутність генотипів батьківських форм.

Північноамериканський сорт Флейм сідлс, що має складне походження та не є прямим нащадком сорту Султаніна, також виявив 61,1 % однакових алелів із ним. Це може пояснюватися випадковим успадкуванням [29] найбільш поширених алелів, що також входять до складу генома сорту Султаніна. Слід зазначити, що мікросателітний профіль сорту Флейм сідлс, отриманий у нашому дослідженні, повністю узгоджуються із наведеними в базах даних [24, 25].

Сорти Кишмиш ОСГІ та Мечта походять від батьківської пари Чауш рожевий — Кишмиш чорний. Аналіз отриманих алельних характеристик виявив спільні алелі в усіх локусах обох досліджуваних сортів та їхніх ймовірних батьків. Кишмиш ОСГІ показав 61,1 % (11 з 18) однакових алелів із сортом Чауш рожевий та 55,5 % (10 з 18) із сортом Кишмиш чорний. Для сорту Мечта ці показники склали аналогічні значення — 61,1 та 55,5 % відповідно. При порівнянні генотипів сортів Кишмиш ОСГІ та Мечта було виявлено 55,5 % однакових алелів (10 з 18).

Сорти Інтерлейкін та Ромулус також походять від спільної батьківської пари Султаніна–Онтаріо; вони виявили однакові алелі в усіх досліджених локусах з батьківським сортом Султаніна. Мікросателітний профіль сорту Онтаріо не був знайдений у відкритих літературних джерелах.

Генотип сорту Інтерлейкін показав 10 однакових алелів з 18 досліджених із сортом Султаніна, що склало 55,5 %, а генотип сорту Ромулус — 9 із 18 алелів (50 %). Цікаво зауважити, що генотипи Інтерлейкіна та Ромулуса виявили більшу подібність між собою, ніж з генотипом батьківського сорту, та показали 72,2 % (13 з 18) однакових алелів.

За допомогою алельних характеристик сортів Інтерлейкін та Ромулус ми зробили спробу реконструювати генотип сорту Онтаріо (табл. 2). Чотири з дев'яти локусів (VVS2, VVMD28, ZAG79 та VVMD32) виявилися гетерозиготними, для решти локусів був визначений лише 1 алель.

Таблиця 2

Розміри алелів (п. о.) 9 мікросателітних локусів досліджуваних та залучених з літературних та інших джерел сортів винограду

№	Сорт	WS 2		ZAG62		VMD 7		WMD 27		VMD 5		WMD 25		VMD 28		ZAG 79		VMD 32	
1	Белградський безна- сінцевий	135	137	190	204	251	251	178	182	229	237	244	258	224	240	250	254	252	274
2	Інтерлейкін	125	153	190	206	249	255	178	182	237	241	244	252	232	250	250	266	252	252
3	Мечта	137	153	198	204	251	251	176	178	237	249	252	258	240	252	250	254	252	274
4	Кишмиш ОСГІ	137	153	190	190	251	255	176	191	237	241	252	258	224	240	252	254	252	266
5	Ромулус	127	153	190	206	241	249	178	182	237	241	244	252	236	250	250	250	242	252
6	Русалка 1	135	157	202	206	249	251	176	182	237	239	242	244	250	264	246	258	252	274
7	Русалка 3	147	157	190	202	251	255	176	191	241	243	242	248	242	250	258	260	252	274
8	Рушакі	153	153	190	190	241	249	176	178	237	241	252	252	224	242	250	262	252	274
9	Флейм сідлс	135	153	190	190	241	255	178	182	237	239	244	252	250	250	250	254	252	274
10	Кишмиш чорний ^{1,2}	153	159	190	204	251	255	178	191	237	237	248	252	224	252	250	254	252	252
11	Султаніна ^{1,2,3}	147	153	190	190	241	255	178	191	237	237	242	252	224	250	250	262	252	252
12	Дим'ят ³	145	145	190	206	241	251	176	178	243	249	–	–	–	–	240	262	–	–
13	Чауш рожевий	137	145	190	198	251	251	176	176	241	249	252	258	240	264	252	254	266	274
14	Шардоне	139	145	190	198	241	245	178	186	237	241	242	258	224	234	246	248	242	274
15	Каберне Совіньон	141	153	190	196	241	241	172	186	235	243	242	252	240	242	250	250	242	242
	Онтаріо *	125	127	–	206	–	249	–	182	–	241	–	244	232	236	250	266	242	252

Примітка: джерела, дані з яких були використані для підтвердження ідентичності досліджуваних безнасіневих сортів винограду: 1 — [27], 2 — [25]; 3 — [24]; * — реконструйований генотип сорту Онтаріо.

Звертає увагу значна подібність генотипів Інтерлейкіна та Ромулуса (72,2 % однакових алелів) у порівнянні з аналогічною парою нащадків одних батьків — сортами Кишмиш ОСГІ та Мечта (55,5 %). Крім того, за літературними даними [30], сорт Гленора (Онтаріо х Кишмиш чорний) за локусом VVMD5 має генотип 237:241, в якому алель 241 п. о. був отриманий від сорту Онтаріо. Це може свідчити про гомозиготність локусів ZAG62, VVMD5, VVMD7, VVMD25 та VVMD27 сорту Онтаріо, що достеменно буде виявлено в результаті генотипування сорту Онтаріо або аналізу генотипів його сортів-нащадків, кількість яких, за інформацією бази даних «Vitis», складає двадцять два.

Висновки. За результатами дослідження отримані алельні характеристики дев'яти мікросателітних локусів для дев'яти безнасісневих виноградних сортів з колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова».

Для сортів Інтерлейкін, Мечта, Кишмиш ОСГІ, Ромулус, Рушакі підтверджено відносини «батьківський сорт — нащадок» із сортами, що зазначені як батьківські у європейському каталозі «Vitis».

Сорт Белградський безнасісневий не показав родинних зв'язків із зазначеним батьківським сортом Дим'ят та виявив значну подібність генотипу до безнасісневого сорту української селекції Мечта.

У подальших дослідженнях планується виявити походження сорту Белградський безнасісневий, використати отримані дані генотипування за мікросателітними локусами для аналізу генетичного різноманіття сортів з колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова» та апробування технології маркер-супутнього добору за ознакою безнасісневості у селекційному процесі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Радчевский П. П. Бессемянные сорта винограда / П. П. Радчевский, Л. П. Трошин // Кубан. гос. аграр. ун-т. — Краснодар, 2008. — 160 с.
2. Смирнов К. В. Виноградарство / К. В. Смирнов, Т. И. Калмыкова, Г. С. Морозова; под ред. К. В. Смирнова. — М.: Агропромиздат, 1987. — 367 с.
3. Marker assisted selection for seedlessness in table grape breeding / E. Karagac, A. Vargas, M. T. de Andr s [et al.] // Tree Genetics & Genomes. — 2012. — Vol. 8, № 5. — P. 1003–1015.
4. This P. Historical origins and genetic diversity of wine grapes / P. This, T. Lacombe, M. R. Thomas // Trends in Genetics. — 2006. — Vol. 22. — P. 511–519.
5. Meredith C. P. Grapevine Genetics: Probing the Past and Facing the Future / C. P. Meredith // Agriculturae Conspectus Scientificus. — 2001. — Vol. 66, № 1. — P. 21–25.
6. Thomas M. R. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphism when analyzed as sequence-tagged sites (STSs) / M. R. Thomas, N. S. Scott // Theoretical and Applied Genetics. — 1993. — Vol. 86. — P. 985–990.
7. Grapevine fingerprinting using microsatellite repeats / G. Cipriani, G. Frazza, E. Peterlunger, R. Testolin // Vitis. — 1994. — Vol. 33, № 4. — P. 211–215.

8. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers / K. M. Sefc, F. Regner, J. Glossl, H. Steinkellner // *Vitis*. — 1998. — Vol. 37, № 1. — P.15–20.
9. Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars / K. M. Sefc, M. S. Lopes, F. Lefort, R. Botta [et al.] // *Theoretical and Applied Genetics*. — 2000. — Vol. 100. — P. 498–505.
10. Use of sequence-tagged microsatellite site markers for characterizing table grape cultivars / E. M. Sanchez-Escribano, J. P. Martin, J. Carreno, J. L. Cenis // *Genome*. — 1999. — № 42. — P. 87–93.
11. Genetic structure, origins, and relationships of grapevine cultivars application of microsatellite markers in grapevine and olives from the Castilian Plateau of Spain. / J. C. Santana, M. Heuertz, C. Arranz [et al.] // *American Journal of Enology and Viticulture*. — 2010. — Vol. 61, № 2. — P. 214–241.
12. The SSR-based molecular profile of 1005 grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions uncovers new synonymy and parentages, and reveals a large admixture amongst varieties of different geographic origin / G. Cipriani, A. Spadotto, I. Jurman, [et al.] // *Theoretical and Applied Genetics*. — 2010. — Vol. 121, № 8. — P. 1569–1585.
13. High throughput analysis of grape genetic diversity as a tool for germplasm collection management / V. Laucou, T. Lacombe, F. Dechesne [et al.] // *Theoretical and Applied Genetics*. — 2011. — Vol. 122, № 6. — P. 1233–1245.
14. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.) / J. E. Bowers, G. S. Dangl, R. Virnani, C. P. Meredith // *Genome*. — 1996. — Vol. 39. — P. 628–633.
15. A set of microsatellite markers with long core repeat optimized for grape (*Vitis* spp.) genotyping / G. Cipriani, M. T. Marrazzo, G. Di Gaspero [et al.] // *BMC Plant Biology*. — 2008. — Vol. 8. — P. 127.
16. Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR / D. Merdinoglu, G. Butterlin, L. Bevilacqua [et al.] // *Molecular Breeding*. — 2005. — Vol. 15, № 4. — P. 349–366.
17. Bowers J. E. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape / J. E. Bowers, G. S. Dangl, C. P. Meredith // *Am. J. Enology Vitic*. — 1999. — Vol. 50, № 3. — P. 243–246.
18. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species / K. M. Sefc, F. J. Regner, E. Turetschek [et al.] // *Genome*. — 1999. — Vol. 42, № 3. — P. 367–373.
19. Lefort, F. Genetic comparison of Greek cultivars of *Vitis vinifera* L. by nuclear microsatellite profiling / F. Lefort, K. K. A. Roubelakis-Angelakis // *American Journal of Enology and Viticulture*. — 2001. — Vol. 52, № 2. — P. 101–108.
20. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla / O. Jaillon, J. M. Aury, B. Noel [et al.] // *Nature*. — 2007. — Vol. 449. — P. 463–467.
21. A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety [Електронний ресурс] / R. Velasco, A. Zharkikh, M. Troggio [et al.] // *Plos One*. — 2007. — Vol. 2, № 12. — Режим доступу: <http://www.biomedsearch.com/attachments/00/18/09/47/18094749/pone.0001326.pdf>

22. Isolation of (AC)n-microsatellites in *Vitis vinifera* L. and analysis of genetic background in grapevines under marker assisted selection / G. Di Gaspero, G. Cipriani, M. T. Marrazzo [et al.] // *Molecular Breeding*. — 2005. — Vol. 15, № 1. — P. 11–20.
23. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars / P. This, A. Jung, J. Borrego [et al.] // *Theoretical Applied Genetic*. — 2004. — Vol. 109. — P. 1448–1458.
24. *Vitis International Variety Catalogue* [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.vivc.de/>
25. *Grapevine Microsatellite Collection* [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://meteo.iasma.it/genetica/gmc.html>
26. Validation assay of p3_VvAGL11 marker in a wide range of genetic background for early selection of *stenospermocarpus* in *Vitis vinifera* L. / C. Bergamini, M. F. Cardone, A. Anaclerio [et al.] // *Mol Biotechnol*. — 2013. — Vol. 54, № 3. — P. 1021–1030.
27. Riaz S. Identification of mildew resistance in wild and cultivated Central Asian grape germplasm / S. Riaz, J. M. Boursiquot, G. S. Dangi [et al.] // *BMC Plant Biol*. — 2013. — Vol. 13. — P. 149.
28. Genotyping of Bulgarian *Vitis vinifera* L. cultivars by microsatellite analysis / T. Hvarleva, K. Rusanov, F. Lefort [et al.] // *Vitis*. — 2004. — Vol. 43, № 1. — P. 27–34.
29. Microsatellite markers for grapevine: A state of the art / K. M. Sefc, F. Lefort, S. Grando / K. A. Roubelakis-Angelakis editor / Amsterdam: Kluwer Publishers. — 2001. — P. 433–463.
30. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers / R. Fatahi, A. Ebadi, N. Bassil [et al.] // *Vitis*. — 2003. — Vol. 42, № 4. — P. 185–192.

Надійшла 04.11.2014.

UDC 634.8:581.167:631.532

Karastan O. M., Mulyukina N. A., Plachinda G. V., Papina O. S. NSC
«Tairov Research Institute of Viticulture and Wine-Making»

THE IDENTIFICATION AND ORIGIN OF NSC «TAIROV RESEARCH INSTITUTE OF VITICULTURE AND WINE-MAKING» COLLECTION SEEDLESS GRAPE VARIETIES

The dynamic development of the consumer market increases the demand for seedless grape varieties, since the presence of seeds in the berries affects consumer choice. Most modern seedless varieties have relatively small size of the berries, so one of main priorities for current grape breeding is to create early-ripening seedless grapevines with large berry size. The classical breeding is extremely resource and time consuming process, therefore application of new technologies such as embryo rescue and screening by DNA molecular markers can significantly improve the efficiency and reduce the terms of

seedless varieties creating. The base of successful breeding is accurate identification of cultivars involved in hybridization. Microsatellite markers are one of the most reliable tools for varieties differentiation.

PCR was conducted by using the set of nine microsatellite markers (VVS2, VrZAG62, VrZAG79, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD25 and VVMD32). The alleles were detected on a DNA analyzer ABI Prizm 310 (Applied Biosystems) by the program GENE MAPPER 4.0.

Origin of cultivars Kishmish OSHI, Mechta, Rushaki, Interlaken, Romulus was confirmed according to Vitis International Variety Catalogue (VIVC). Because of parent cultivars absence the origin of varieties Rusalka 1, Rusalka 3 and Flame seedless could not be verified. Cultivar Beogradska bessemena demonstrated no relationships «parent — descendent» with cultivar Dymyat as it was described in VIVC. While Beogradska bessemena showed common alleles at all investigated loci with Ukrainian cultivar Mechta. In the future Beogradska bessemena possible origin from Mechta will be studied more thoroughly.

УДК 634.8:581.167:631.532

Карастан О. М., Мулюкина Н. А., Плачинда Г. В., Папина Е. С.

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ПРОИСХОЖДЕНИЕ БЕССЕМЯННЫХ СОРТОВ
ВИНОГРАДА ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ННЦ «ИНСТИТУТ ВИНОГРАДАРСТВА
И ВИНODEЛИЯ ИМ. В. Е. ТАИРОВА»**

Получили аллельные характеристики для девяти микросателлитных локусов (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, ZAG79 и ZAG62) бессемянных сортов винограда из коллекции ННЦ «Институт виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова». Подтверждено происхождение сортов Интерлейкин, Мечта, Кишмиш ОСХИ, Ромулус, Рушаки и опровергнуто наличие отношений «потомок — родительский сорт» между сортами Белградский бессемянный и Димьят.

СЕЛЕКЦІЯ

УДК 633.111.1: 631.527: 632.9

М. А. ЛИТВИНЕНКО, акад. НААН України, д. с.-г. н., зав. від.,
М. М. ТОПАЛ, наук. співроб.
СГІ–НЦНС, Одеса
e-mail: dr_litvin@ukr.net

СЕЛЕКЦІЙНА ЦІННІСТЬ ТРАНСЛОКАЦІЇ 1AL/1RS ЩОДО СТІЙКОСТІ ДО БУРОЇ ТА СТЕБЛОВОЇ ІРЖІ НА ПІВДНІ УКРАЇНИ

Досліджено ефекти транслокації 1AL/1RS на стійкість до популяції місцевих рас бурої та стеблової іржі у сортів та ліній пшениці м'якої озимої. Стійкість до даних хвороб в умовах Півдня України визначається взаємодією генів, локалізованих у самій транслокації, з генами стійкості генотипу, де при їхньому вдалому співвідношенні можливе проявлення високої або помірної стійкості.

Ключові слова: озима пшениця, сорт, бура іржа, стеблова іржа, транслокація 1AL/1RS.

Вступ. Пшениця м'яка (*Triticum aestivum* L.) як одна з основних продовольчих культур у світі була і залишається предметом інтенсивних генетичних досліджень. Споживання її на різних континентах стрімко зростає, і подальше збільшення зернового виробництва неможливе без широкого і всебічного використання найновіших досягнень науки. Одним із економічно та екологічно ефективних напрямів у пошуках є селекція на стійкість культури до хвороб. Пошуки у цьому напрямі в першу чергу залежать від наявності джерел стійкості різного походження, зокрема і отриманих від близьких та віддалених співродичів пшениці [1, 2]. І надійним джерелом збагачення геноплазми пшениці м'якої чужинними генетичними компонентами виявились пшенично-житні транслокації (ПЖТ), саме їхня наявність забезпечує у генотипах контроль продуктивності та адаптивності вирощуваних сортів [3]. Як відомо, ПЖТ 1AL/1RS є другою після 1BL/1RS транслокації за присутністю у комерційних сортах пшениці. Вона одержана від американського сорту Amigo, створеного в США в 1976 році [4]. Окрім житньої транслокації, сорт Amigo несе транслокацію від *Agropyrum elongatum*, в якій локалізовані гени стійкості до бурої (Lr24) та стеблової (SR24) іржі [5, 4]. Водночас ефекти генів ПЖТ 1AL/1RS значною мірою залежать від взаємодії з іншими генами в конкретних генотипах і умовах зовнішнього середовища [6, 7].

Мета досліджень: ідентифікувати транслокацію 1AL/1RS на сортах та лініях і виявити конкретні генетичні комбінації, в яких взаємодія генів

досліджуваної транслокації з генами стійкості пшеничного генотипу забезпечує найкращий ефект у підвищенні стійкості пшениці до бурї та стеблової іржі на Півдні України.

Матеріали та методи досліджень. Матеріалом слугували сорти, які містять у собі транслокацію 1AL/1RS, та лінії, отримані від парних та потрійних схрещувань генетичного джерела ПЖТ 1AL/1RS сортів Княгиня Ольга та Вихованка од. з місцевими сортами, які відрізняються за стійкістю до абіотичних та біотичних факторів. Зазначені лінії висівались на експериментальних полях відділу селекції та насінництва пшениці СГІ за типом селекційного розсадника (довжина рядка 1 м та міжряддя 0,45 м) на комплексному інфекційному фоні з обсівом накопичувача (суміш високосприйнятливих до хвороб сортів). Інокуляцію із сумішшю рас і біотипів бурї та стеблової іржі проводили співробітники відділу фітопатології та ентомології СГІ (Гораш А. Ф., Васильєв О. А., Бабаянц Л. Т.). Расовий та біотипний склад і строки інокулювання іржі наведені в монографії Бабаянц О. В., Бабаянц Л. Т. [8]. Стійкість на дорослих рослинах оцінювали за 9-бальною шкалою [8, 9]. Ідентифікували транслокацію 1AL/1RS у створених ліній двома методами: 1) електрофорезом запасних білків у поліакриламідному гелі у відділі генетичних основ селекції СГІ — 456 зразків (Благодарова О. М., Рибалка О. І.), в Інституті захисту рослин НААН — 257 зразків (Созінов І. О., Козуб Н. О.); 2) ДНК-аналізом у відділі загальної та молекулярної генетики СГІ з використанням мікросателітних маркерів Rems1303–1RS, XScm9–1RS (для жита), Xbarc263–1AS (для пшениці) — 357 зразків (Сударчук Л. В. Галаєв О. В., Сиволап Ю. М.).

Результати досліджень. Дослідження колекційних зразків різного походження, в генотипах яких є ПЖТ 1AL/1RS, показали різний рівень стійкості до бурї та стеблової іржі на комплексному інфекційному фоні місцевих рас бурї та стеблової іржі (табл. 1). Комплексну стійкість до даних хвороб несуть сорти Amigo, Вихованка од., Золотоколоса, Колумбія, Унікум, Century:CV-744, TX98V9618. Частина сортів за окремими хворобами (бура і стеблова іржа) показують високу та помірну стійкість, інша частина — помірно сприйнятливі, сприйнятливі або високосприйнятливі.

Ця тенденція спостерігається і на експериментальних лінях (713), створених на базі сорту Княгиня Ольга і місцевих сортів, які мають помірно сприйнятливу стійкість до бурї та стеблової іржі. Після ідентифікації транслокації на лінях методом електрофорезу запасних білків та визначення стійкості до бурї та стеблової іржі лінії було розділено на групи 1) гомозиготні за 1AL/1RS; 2) гетерозиготні за 1AL/1RS; 3) з відсутністю 1AL/1RS.

У процесі проведення аналізу на стійкість до зазначених хвороб було виявлено, що у всіх комбінаціях схрещування (Куяльник/Княгиня Ольга, Антонівка/Княгиня Ольга, Заграва/Княгиня Ольга, Вікторія од./Княгиня Ольга, Сирена од./Княгиня Ольга, Заможність од./Княгиня Ольга, Сирена од./Зміна//Княгиня Ольга, Господиня/Зміна//Княгиня Ольга,

Писанка/Княгиня Ольга, Благодарка од./Антонівка//Княгиня Ольга, Місія/Зміна//Княгиня Ольга) спостерігалась одна й та ж тенденція за розподілом груп ліній із стійкістю до бурої та стеблової іржі. Тому було вирішено об'єднати всі лінії кожної комбінації у відповідні групи (рис. 1, 2).

Таблиця 1

Стійкість сортів із ПЖТ 1AL/1RS на комплексному інфекційному фоні місцевих популяцій збудника бурої та стеблової іржі

Сорт, країна походження	Стійкість до, бал		Сорт, країна походження	Стійкість до, бал	
	бурої іржі	стеблової іржі		бурої іржі	стеблової іржі
Княгиня Ольга UKR	4(8)	6(8)	CENTURY USA	8	8
Вихованка од. UKR	8	8	KS 92 HW 151–6 USA	7	6
Смуглянка UKR	6	4	KS 92WQR C21 USA	6	8
Золотоколоса UKR	8	7	KS 92WQR C22 USA	5	4
Колумбія UKR	7	7	TAM 107: USA	4	4
Унікум UKR	8	7	TAM 302 USA	2	8
Веснянка UKR	6	5	TX98V9618 USA	8	8
Спасівка UKR	8	5	Select(avint) USA	5	8
Ясногірка UKR	4	4	Nekona USA	6	4
Експромт UKR	6	6	Niobrara USA	2	8
Avint MDA	6	4	Amigo USA	7	7

Шкала стійкості: 1–2 — дуже сприйнятливий, 3 — високосприйнятливий, 4 — сприйнятливий, 5 — помірно сприйнятливий, 6 — помірно стійкий, 7 — стійкий, 8 — високостійкий, 9 — імунний.

Як видно з рисунків 1, 2, в усіх групах ліній є як стійкі, так і сприйнятливі генотипи. У групі ліній з відсутністю транслокації 1AL/1RS спостерігається найбільший відсоток стійких форм — 38,5 % до бурої іржі (лінії з транслокацією 26,6 %, гетерогенні — 27,7 %) (рис. 1). Відсоток помірно стійких та помірно сприйнятливих і сприйнятливих генотипів у всіх групах знаходиться на однаковому рівні. Більшу частину високосприйнятливих ліній отримано в групі з ПЖТ 1AL/1RS — 17,4 % (відсутність транслокації 9,8 %).

Проте ситуація із стійкістю до стеблової іржі протилежна за результатами оцінки щодо стійкості до бурої іржі на користь ліній з досліджуваною транслокацією (рис. 2). Так, найбільший відсоток форм, стійких до стеблової іржі, спостерігається у групах ліній, гомогенних (39,4 %) та гетерогенних за 1AL/1RS (43,4 %) у порівнянні з лініями без транслокації (26,6 %). У групі ліній з наявністю 1AL/1RS відсоток помірно стійких та помірно сприйнятливих генотипів нижчий. Поряд з цим частота сприйнятливих форм складає 4,6 %, а високо- і дуже сприйнятливих ліній взагалі не виявлено.

У групах ліній, гетерогенних та з відсутністю транслокації, кількість помірно сприйнятливих і сприйнятливих ліній коливалась у межах 18,3–20,6 %, високосприйнятливих — відсутність транслокації 8,3–

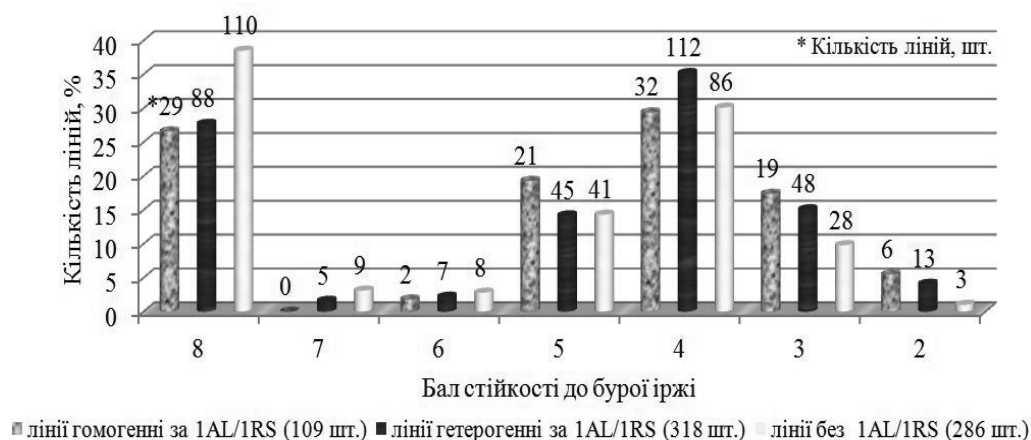


Рис. 1. Групування ліній F_4 озимої м'якої пшениці за стійкістю до бурої іржі за наявності чи відсутності транслокації 1AL/1RS

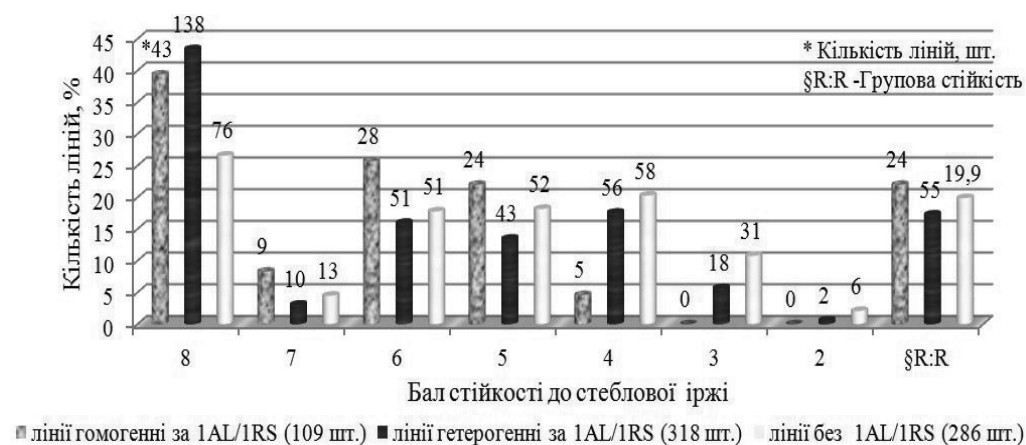


Рис. 2. Групування ліній F_4 озимої м'якої пшениці за стійкістю до стеблової іржі за наявності чи відсутності транслокації 1AL/1RS

10,8 %, — гетерогенні 4,3–5,7 %, дуже сприйнятливих 1,3–2,0 %. Виявлено, що у всіх групах ліній у деяких генотипах з високою стійкістю спостерігалась сегрегація нестійких рослин як з бурої, так і з стеблової іржі (гомозигота за 1AL/1RS — 6 ліній, гетерозигота за 1AL/1RS — 23 лінії, відсутність транслокації — 20 ліній). На цих лініях додатково було проведено повторний добір стійких форм до бурої та стеблової іржі.

Для подальшого вивчення ефектів транслокації на стійкість до хвороб у групі ліній, гетерогенних за транслокацією, було відібрано на базі сортів Княгиня Ольга 10 ліній з кожної по 25 колосків і Вихованки од. 17 ліній з кожної по 5 колосків (табл. 2). Ідентифікували транслокації у гетерогенних ліній методом ПЛП-аналізу із використанням мікросателітних маркерів Rems1303–1RS, XScm9–1RS (для жита), Xbarc263–1AS (для пшениці).

Таблиця 2

Вивчення гетерогенних за транслокацією 1AL/1RS ліній на інфекційному фоні на стійкість до бурої та стеблової іржі

Лінія	Наявність 1AL/1RS		Відсутність 1AL/1RS	
	бура іржа, бал	стеблова іржа, бал	бура іржа, бал	стеблова іржа, бал
F ₅ Куяльник/Княгиня Ольга				
Ер.010/12	8/6	4	8/7/5	8/6/4
Ер.016/12	8/6	4	8/6	7/4/3
Ер.037/12	4/6	3	5/6	6/4
Ер. 039/12	8	8	8	8
Ер.066/12	8/7	8/5	8/6	8/7/4
F ₅ Антонівка/Княгиня Ольга				
Ер.093/12	7/5	5	6/4	6/4
Ер.0108/12	8/7/5	7/4	8/6	8/5/3
Ер.0204/12	8/6/4	8/3	8/5/4	8/3
Ер. 265/12	8/7	8/5	8/7/3	8/5/3
Ер.0290/12	7/5	8/5/4	7/6	8/7/5
F ₄ Ліра/Вихованка од.				
Ер.914/13, Ер.915/13, Ер.917/13, Ер.919/13, Ер.920/13, Ер.922/13	8	8	8	8
F ₄ Ер.752/06/Вихованка од.				
Ер.968/13	7/6	8/6	6/5	7/5
Ер.974/13	6	6	7/8	8/5
Ер.969/13, Ер.973/13, Ер.975/13	8	8	8	8
F ₄ Вихованка од./Ер.752/06				
Ер.992/13	8	8	8/6	8
Ер.999/13, Ер.1000/13	8/5	8	8/5	8
Ер.1003/13, Ер.1004/13, Ер.1006/13	8	8	8	8

Як видно із таблиці 2, наявність транслокації суттєво не впливає на стійкість до бурої та стеблової іржі. В кожній лінії спостерігається рівномірне розщеплення біотипів незалежно від наявності чи відсутності транслокації. У ліній, створених на базі Княгині Ольги, проявляється велика гетерогенність за стійкістю до бурої та стеблової іржі з великим розмахом мінливості від сприйнятливих до високостійких генотипів. А лінії, створені на основі Вихованки од., проявляють високу або помірну стійкість до даних хвороб також незалежно від наявності чи відсутності транслокації.

Але відмінності ліній у характері стійкості пов'язані з особливостями вихідних батьківських форм, їхньою комбінаційною здатністю та стабільністю ознак. Сорт Вихованка од. проявляє високу стабільність до даних хвороб і має високу комбінаційну здатність при створенні стійких генотипів. Водночас Княгиня Ольга нестабільна за стійкістю до бурої (4/8 балів)

і стеблової іржі (6/8 балів), що позначається на її комбінаційній здатності при створенні стійких форм.

Обговорення результатів досліджень. За результатами досліджень не виявлено чіткого зв'язку наявності в генотипі ПЖТ 1AL/1RS зі стійкістю до рас бурої і стеблової іржі в умовах Півдня України. Можливо, прояв стійкості залежить не тільки від наявності транслокації, а й інших генів стійкості, які існують в генотипах батьківських форм. Одним із прикладів є донор транслокації сорт Amigo, в генотипі якого, окрім житньої, є і пирійна транслокація, яка локалізована в 3DL хромосомі і несе ефективні гени стійкості Lr24, Sr24 [4, 5]. Таку ж транслокацію мають сорти Вихованка од., Княгиня Ольга [10]. Також відомо, що у більшості сортів одеської селекції, зокрема у сортах Княгиня Ольга, Благодарка од., Заграва од., Куяльник, Писанка, Зміна, присутній ген Lr34, який є ефективним при поєднанні з іншими генами стійкості [11]. Так, у дослідях, які проведені в СГІ відділом фітопатології та ентомології і відділом загальної та молекулярної генетики, було вивчено взаємодію генів стійкості Lr24, Lr34, Lr21, транслокація 1AL/1RS [10]. Високу стійкість забезпечили такі комбінації генів: 1AL/1RS + Lr24+ Lr34, 1AL/1RS + Lr24, Lr34+ Lr21+ Lr24, 1AL/1RS + Lr24, помірну стійкість: 1AL/1RS + Lr24+ Lr21, Lr34+ Lr24+ Lr21, помірно сприйнятливу — 1AL/1RS + Lr21, Lr24+Lr21, Lr24 і сприйнятливо — 1AL/1RS + Lr34, Lr34+Lr21, 1AL/1RS, Lr34. За такої взаємодії генів видно, що присутність кожного з них окремо не може забезпечити високої стійкості, а оптимальне їхнє поєднання дає досить високий рівень стійкості до збудника бурої іржі. Отже, сама транслокація 1AL/1RS не забезпечує у генотипах належного рівня стійкості до бурої іржі, але при її комбінуванні з іншими генами стійкості пшеничного генотипу залежно від їхньої ефективності спостерігається зростання рівня резистентності. Тут транслокація виступає в ролі підсилювача. Залежно від комбінування генів проявляються різні ефекти: високої стійкості (1AL/1RS + Lr24+ Lr34, 1AL/1RS + Lr24) і помірної стійкості (1AL/1RS + Lr24+ Lr21). Проте висока і помірна стійкість до бурої іржі спостерігається і у генотипів з відсутністю транслокації за комбінуванням генів Lr34+ Lr21+ Lr24, Lr34+ Lr24+ Lr21.

Ці висновки знаходять підтвердження в наших дослідженнях. За стійкістю до бурої іржі у всіх групах ліній спостерігається різний рівень прояву ознаки, що, ймовірно, зумовлюється наявністю генів Lr24, Lr34, Lr21 й транслокації 1AL/1RS та їхнім комбінуванням. Подібна ситуація складається при дослідженні стійкості до стеблової іржі. У кожній групі ліній є стійкі та сприйнятливі. Окрім транслокації ці лінії можуть мати ген Sr24 від Amigo та інші гени стійкості до стеблової іржі, які при комбінуванні, незалежно від наявності чи відсутності 1AL/1RS, забезпечують високу та помірну стійкість до хвороби.

Порівнюючи прояв двох хвороб між групами ліній, виявили, що найбільша частота отримання стійких форм до бурої іржі у ліній без трансло-

кації, а групи, гомогенні та гетерогенні за транслокацією, мають практично однаковий рівень і вищий відсоток нестійких ліній до бурої іржі (рис. 1).

Дещо інша ситуація складається у ліній за стійкістю до стеблової іржі (рис. 2). Відсоток отримання високо- та помірностійких ліній і ліній з комплексною стійкістю виявляється в групі ліній гомогенних за транслокацією. У даному випадку відсутні лінії, які були б сприйнятливі до стеблової іржі. При цьому можна стверджувати, що присутність у генотипі транслокації 1AL/1RS більш ефективна щодо стійкості до збудника стеблової іржі.

Проте не спостерігається зв'язку транслокації зі стійкістю до бурої та стеблової іржі у групі гетерогенних ліній за транслокацією 1AL/1RS. Ці лінії часто проявляють однорідність за стійкістю до хвороб, і ймовірно, що стійкість у них контролюється геном чи комбінацією генів, які не пов'язані з транслокацією. Крім того, розподіл гетерогенних ліній за транслокацією на біотики показав, що незалежно від присутності чи відсутності транслокації проявляється майже однакова стійкість (табл. 2). Цю тенденцію чітко видно на лініях у комбінації з Вихованкою од., де лінії гетерогенні показують стабільну і високу стійкість до бурої та стеблової іржі незалежно від наявності чи відсутності транслокації. У даному випадку можливі ефекти генів, що забезпечують високу стійкість і не залежать від транслокації. Але при різному рівні резистентності у гетерогенних ліній за наявності 1AL/1RS можливе різне співвідношення ефектів генів стійкості, що забезпечує однаковий ефект як з транслокацією, так і без неї.

Звісно, стверджувати про відсутність впливу на стійкість самої транслокації неможливо і необ'єктивно, тому що у даній роботі досліджуються ефекти транслокації при комплексному інфекційному навантаженні місцевих рас збудників бурої та стеблової іржі. Ймовірно, стійкість, яка пов'язана з транслокацією, може бути виявлена тільки щодо конкретного біотипного складу збудника і в певних агрокліматичних умовах.

Вплив транслокації на стійкість в окремих випадках може бути опосередкованим через підвищення продуктивності та адаптивності до абіотичних факторів у конкретних генотипах та умовах вирощування пшениці [6, 7]. При поєднанні властивостей ПЖТ та ефективних генів стійкості можливо отримати високоадаптований та високостійкий до хвороб генотип. Такими властивостями вирізняються сорти озимої м'якої пшениці Вихованка од. та Золотоколоса, а також створені на базі даного експериментального матеріалу та передані на державне сортовипробування в 2013 р. сорт Житниця одеська, а в 2014 р. — Ліга одеська, які несуть ПЖТ 1AL/1RS і мають значну (18–20 %) перевагу над національними стандартами за врожайністю. Вони характеризуються підвищеною морозо-, зимостійкістю, посухо-, жаростійкістю та показують комплексну стійкість до бурої та стеблової іржі. Окрім створених сортів, виділено ряд цінних ліній з комплексною стійкістю, як і окремо до бурої та до стеблової іржі, які

вирізняються високими господарсько цінними ознаками. Їхнє вивчення в подальшому проводиться за типом конкурсного сортовипробування.

Висновки. Стійкість до бурої та стеблової іржі при комплексному інфекційному навантаженні популяції місцевих рас в умовах Півдня України на експериментальних лініях та сортах не залежить від самої транслокації, а зумовлюється наявністю і взаємодією в генотипах інших генів стійкості.

Наявність у генотипі ПЖТ 1AL/1RS має підсилюючий ефект і проявляється тільки за вдалого комбінування з іншими генами. При цьому взаємодія транслокації 1AL/1RS з іншими генами стійкості більш ефективна за стійкістю до збудника стеблової іржі.

При поєднанні в одному генотипі транслокації та ефективних генів стійкості, не локалізованих у транслокації, можливо отримати генотипи з високою адаптивністю та стійкістю до хвороб.

З дослідженого матеріалу було створено та передано на державне сортовипробування в 2013 р. сорт Житниця одеська, а в 2014 р. Ліга одеська, які у своєму генотипі мають ПЖТ 1AL/1RS і значно переважають (18–20 %) національні стандарти за врожайністю і вирізняються комплексною стійкістю до бурої та стеблової іржі. Виділено ряд цінних високоврожайних ліній з високою стійкістю до біотичних і абіотичних факторів.

Автори статті висловлюють подяку Рибалці О. І., Благодаровій О. М., Созінову І. О., Козуб Н. О. за виконання аналізу методом електрофорезу запасних білків; Галаєву О. В., Сударчук Л. В. — за ідентифікування зразків методом ПЛР-аналізу; Бабаянц Л. Т., Васильєву О. А., Горашу А. Ф. — за надання інфекційної суміші та інокулювання досліджуваного матеріалу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Вавилов Н. И. Теоретические основы селекции растений / Н. И. Вавилов. — М., 1935. — Т. 1. — С. 893–990.
2. Fedak G. Alien species as a sources of physiological trait for wheat improvement / G. Fedak // Euphytica. — 1985. — V. 105. — P. 673–680.
3. Власенко В. А. Селекційна цінність пшенично-житньої транслокації 1AL/1RS при створенні сортів озимої м'якої пшениці / В. А. Власенко, В. Т. Колучий, Н. О. Козуб, Т. О. Собко // Наук.-техн. бюл. Миронівського ін-ту пшениці. — К.: Аграрна наука, 2006. — Вип. 5. — С. 84–94.
4. Rabinovich S. V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. / S. V. Rabinovich // Euphytica. — 1998. — Vol. 100. — P. 323–340.
5. Jiang J. Recent advances in alien gene transfer in wheat / J. Jiang & B. Friebe & B. S. Gill // Euphytica. — 1994. — 73. — P. 199–212.
6. Литвиненко М. А. Ефект транслокації 1AL/1RS на морозо-, зимостійкість та урожайність у ліній F₅ пшениці м'якої озимої / М. А. Литвиненко, М. М. Топап // Збірник наукових праць СГП–НЦНС. — Одеса, 2013. — Вип. 21. — С. 44–52.
7. Kim W. Agronomic effect of wheat-rye translocation carrying rye chromatin (1R) from different sources / W. Kim, P. S. Jonson, P. S. Baenziger et al. // Crop Sci. — 2004. — V. 44. — P. 1254–1258.

8. Бабаянц О. В. Основы селекции и методологии оценок устойчивости пшеницы к возбудителям болезней / О. В. Бабаянц, Л. Т. Бабаянц; НААН, Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноведения и сортоизучения. — Одесса: БМБ, 2014. — 401 с.
9. Babayants L. T. Methods of breeding and estimation of wheat and barley resistance to diseases / L. T. Babayants // Praha, Czech Republic. — 1988. — 321 p. (in Russian).
10. Gorash A. Leaf rust resistance of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines derived from interspecific crosses / A. Gorash, A. Galaev, O. Babayants, L. Babayants // Zemdirbyste-Agriculture. — 2014. — Vol. 101, No. 3. — P. 295–302.
11. Карелов А. В. Идентификация аллельного состояния гена устойчивости к бурой ржавчине Lr34 у сортов озимой мягкой пшеницы украинской селекции / А. В. Карелов, Я. В. Пирко, Н. А. Козуб, И. А. Созинов, Н. Н. Пирко, Н. А. Литвиненко, С. Ф. Лыфенко, В. Т. Колючий, Я. Б. Блюм, А. А. Созинов // Цитология и генетика. — 2011. — Т. 45, № 4. — С. 3–10. — Библиогр.: 23 назв. — Рос.

Надійшла 12.12.2014.

UDC 633.111.1: 631.527: 632.9

Lytvynenko M. A., Topal M. M. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

BREEDING VALUE OF 1AL/1RS TRANSLOCATION ACCORDING RESISTANCE TO LEAF AND STEM RUSTS IN THE SOUTH OF UKRAINE

The effects of translocation 1AL/1RS for resistance to leaf and stem rust in varieties and lines of bread winter wheat were investigated. Resistance to these diseases under of south Ukrainian conditions has to be depended on interaction of the genes, located in translocation and other resistance genes, which at their successful ratio with 1AL / 1RS possible manifestation of high or moderate resistance. Besides this, the presence in genotype of the translocation 1AL/1RS more effective to pathogen of stem rust. The effects of translocation on the diseases tolerance can be mediated through increasing productivity and adaptability to abiotic factors in certain genotypes and growing conditions. Under useful combining in one genotype of translocation and effective genes for resistance to diseases it is possible to obtain highly adapted to biotic and abiotic factors genotypes. New varieties have been created and submitted to the state trial testing in 2013 — Zhytnytsya odeska, in 2014 Liga odeska with wheat-rye translocation 1AL / 1RS and have a significant advantage over standards for yield and are complex resistance to local races of leaf and stem rust.

УДК 633.111.1: 631.527: 632.9

Литвиненко Н. А., Топал Н. Н.**СЕЛЕКЦИОННАЯ ЦЕННОСТЬ ТРАНСЛОКАЦИИ 1AL/1RS
ПО УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ И СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ
НА ЮГЕ УКРАИНЫ**

Исследованы эффекты транслокации 1AL/1RS на устойчивость к популяции местных рас бурой и стеблевой ржавчины у сортов и линий пшеницы мягкой озимой. Устойчивость к данным болезням в условиях Юга Украины определяется взаимодействием генов, локализованных в самой транслокации, с генами устойчивости пшеничного генотипа, когда при их удачном соотношении возможно проявление высокой или умеренной устойчивости. При этом присутствие в генотипе транслокации 1AL/1RS более эффективно к возбудителю стеблевой ржавчины. Эффекты транслокации на выносливость к болезням могут быть опосредованными через повышение продуктивности и адаптивности к абиотическим факторам у конкретных генотипов и условиях выращивания. При удачном комбинировании транслокации и эффективных генов устойчивости можно получить высокоадаптивные к биотическим и абиотическим факторам генотипы. Созданы и переданы на государственное сортоиспытание в 2013 г. сорт Житница одесская, а в 2014 г. — Лига одесская, которые несут в себе ПЖТ 1AL/1RS и имеют комплексную устойчивость к местным расам бурой и стеблевой ржавчины.

УДК 633.11:631.527

Є. А. ШПИКУЛЯК, мол. наук. співроб.,
СГІ–НЦНС, Одеса
E-mail: shenja08@mail.ru

ЗАКОНОМІРНОСТІ ПРОЯВУ ТА РІВЕНЬ МІНЛИВОСТІ СОРТОВИХ ІДЕНТИФІКАЦІЙНИХ ОЗНАК ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ

Вивчені закономірності прояву основних сортових ідентифікаційних ознак озимої пшениці м'якої та визначено рівень їхньої мінливості залежно від умов вирощування та генотипу.

Ключові слова: пшениця м'яка озима, ідентифікаційні ознаки, сорт.

Вступ. М'яка пшениця є не тільки однією з основних сільськогосподарських культур, а й найбільш перспективним об'єктом досліджень з генетики, селекції та насінництва. Її переваги перед багатьма сільськогосподарськими культурами полягають у високому генетичному потенціалі урожайності і, що найголовніше, — це її екологічна пластичність, тобто надзвичайно широкий гомеостаз [1]. Все це, з генетичної точки зору, зумовлено походженням виду. Протягом минулих тисячоліть вона шляхом складної гібридизації, геномного мутагенезу і природних доборів «зуміла» в одному біологічному виді об'єднати три простих види: пшеницю-однозернянку *T. boeicum* та два дикуни-егілопси — *Ae. speltoïdes* та *Ae. Sguarrosa* [2]. Так виник дуже мінливий вид з дивним поєднанням корисних біологічних і господарських ознак. Складне філогенетичне походження стало водночас і причиною великої фенотипової мінливості багатьох морфологічних ознак, зокрема і тих, за якими визначається оригінальність сорту і сортова чистота посівів.

Україна вступила до міжнародної організації UPOV, в завдання якої входить міжнародний правовий захист сортів. Для характеристики сортів, ліній і гібридів сільськогосподарських культур методикою організації передбачені три головні вимоги (DUS-тест): D (Distinctness) — сорт має бути новий і відрізнятися від інших; U (Uniformity) — ідентичність або однорідність сорту; S (Stability) — стабільність відтворення агрономічних ознак сорту при його вирощуванні [3].

Правовий захист сортів, ефективне використання їх у виробництві, технологічно витримане насінництво на різних його рівнях, сортовий контроль та інспектування сортових посівів — все це неможливе без наукового обґрунтування і розробки системи сорторозпізнавальних (ідентифікаційних) ознак конкретних культур, зокрема пшениці м'якої озимої.

* Робота виконана під керівництвом д. с.-г. н., акад. НААН України С. П. Лифенка.

У методиці UPOV для озимої пшениці м'якої при визначенні оригінальності сорту запропоновано застосовувати комплекс із 35 ознак та зазначені ступені їхнього прояву [4]. Зважаючи на безліч сортів, за 35 ознаками їх не можна ідентифікувати з гарантованим визначенням оригінальності. Ця проблема ускладнюється ще й тим, що кожен селекціонер працює у своїй екологічній зоні і його сорти часто за законами відповідності до конкретних агроекологічних та ґрунтово-кліматичних умов належать до «однієї сім'ї» — дуже схожі за морфологічними ознаками, тобто важко відрізнявані, і в той же час вони можуть бути різні за біологічними та господарсько корисними ознаками. Не менш складною постає проблема у випадках, коли генетично детермінована ознака має великий діапазон фенотипової мінливості, яка суттєво перевершує показники, затверджені офіційною методикою. Стосовно методик, то вони часто мають нормативи, які включені без достатніх експериментальних досліджень.

Матеріал та методи досліджень. Дослідження ознак виконувались за методикою проведення експертизи сортів пшениці м'якої озимої на відмінність, однорідність та стабільність. У досліді були залучені сорти, які суттєво відрізняються між собою за основними вирізняльними ознаками: Куяльник, Вікторія одеська, Красень, Одеська 267, Розмай, Зміна, Турунчук, Супутниця. Група сортів (Куяльник, Вікторія одеська, Красень, Одеська 267, Розмай) вирощувались по пару за різних способів сівби: суцільний (з міжряддям 15 см) та широкорядний (45 см). Подібна ж група сортів (Куяльник, Вікторія одеська, Зміна, Одеська 267, Розмай) вирощувалася у три строки сівби (3 жовтня, 24 жовтня та 22 листопада). Довжину колеоптиля визначали за допомогою ростильного приладу, сконструйованого академіком С. П. Лифенком [5].

Дослідження ознак сортів пшениці м'якої озимої, які входять до переліку ВОС-тесту, показали, що за рівнем мінливості вони суттєво різняться. Тому ми запропонували розділити їх за ознаками на три групи: 1) ознаки, які є стабільними у фенотиповому прояві (наявність кіля на нижній квітковій лусці, опушення внутрішньої та зовнішньої нижньої колоскової луски, колір зернівки та форма колоса); 2) ознаки, які мінливі в обмеженому діапазоні (коефіцієнт варіації не перевищує 10 %) — висота рослин, довжина колоса, кількість колосків у колосі, щільність колоса, довжина та ширина зернівки, а також відношення довжини зернівки до її ширини; 3) ознаки найбільш мінливі ($CV > 10\%$) — форма та довжина зубця нижньої колоскової луски, форма та ширина плеча нижньої колоскової луски, форма нижньої колоскової луски та довжина остюків або зубців на верхівці колоса. Нижче наводяться результати досліджень закономірностей прояву вирізняльних ознак та рівень їхньої мінливості.

Висота рослини. Добре відомо, що за минулі 3–4 десятиліття в Україні здійснився перехід від високорослих (120–150 см і більше) до середньорослих (100–120 см), низькорослих (80–95 см) та напівкарликових (70–75 см) генотипів пшениці. Відповідно до законів генетики,

фенотипове варіювання знаходиться в прямій залежності від ступеня вираження ознаки. Тому у високорослих сортів коефіцієнт варіювання ознаки має бути вищий, ніж у низькорослих та напівкарликів. Але в дійсності ситуація далеко не завжди така. Дослідженнями мінливості ознаки висота рослин виявлено, що вона має невисокий ступінь варіювання, проте у різних генотипів норма реакції за цією ознакою досить широка (табл. 1). Так, висота рослин сорту Одеська 267 в оптимальні роки складає 115–120 см. У 2011–2012 рр. протягом усього вегетаційного періоду спостерігали комплекс екстремальних екологічних факторів.

Таблиця 1

Фенотипова мінливість ознаки «висота рослини» залежно від умов вирощування, 2012 р.

Строк та спосіб сівби	Сорт				
	Кукільник	Вікторія одеська	Одеська 267	Розмай	середнє
I строк (3 жовтня), см	61,8	60,9	71,6	63,6	64,5
CV, %	6,7	5,1	6,3	7,1	6,3
II строк (24 жовтня), см	57,0	55,6	57,9	58,6	57,3
CV, %	6,7	6,2	8,5	7,5	7,2
III строк (22 листопада), см	53,7	52,4	54,3	54,5	53,7
CV, %	5,8	8,0	6,7	6,0	6,6
HIP ₀₀₅ A (сорт)	1,5				
HIP ₀₀₅ B (строки)	1,1				
Суцільний посів (15 см), см	62,0	61,8	73,7	59,7	64,3
CV, %	6,6	6,0	7,7	7,6	7,0
Широкорядний посів (45 см), см	62,9	64,1	68,2	64,3	64,9
CV, %	6,7	6,4	8,8	6,6	7,1
HIP ₀₀₅ A (сорт)	4,4				
HIP ₀₀₅ B (способи)	2,8				

Висота рослин цього сорту за оптимальних строків сівби становила 71,6 см, а пізніших строків (24 жовтня та 22 листопада) ще нижча, проте коефіцієнти мінливості при цьому залишаються невисокі в порівнянні з одержаними з посівів оптимальних строків сівби: 6–8,5 %. Це свідчить про беззаперечний вплив комплексу екологічних та фізіолого-генетичних факторів на фенотиповий прояв ознак.

Морфологічні ознаки проростків, куща та листя. Фахівцям, переважно селекціонерам, добре відомо, що усі ярі сорти м'якої пшениці мають густо опушений перший листок, який прорізується із колеоптиля. У озимих сортів, навпаки, цей листок, як усі наступні за часом утворення, не мають такого опушення. У твердої пшениці усі озимі і ярі сорти мають неопушені листки. Отже, у лабораторному сортовому контролі можна з успіхом застосовувати ознаку опушення першого листка для відрізнєння ярових і озимих сортів м'якої пшениці.

Таблиця 2

Довжина колеоптиля у сортів пшениці м'якої озимої залежно від глибини загортання насіння, см, 2013 р.

Сорт/ варіант	Глибина 5 см	CV, %	Глибина 15 см	CV, %	НІР ₀₀₅ А (сорт)	НІР ₀₀₅ В (глибина)
Одеська 51	5,65	9,4	7	10,4	0,3 (суттєва)	0,1 (суттєва)
Одеська 267	4,85	8,7	6,25	10,6		
Розмай	4,4	6,9	5,05	7,9		
Красень	4,25	5,4	5,1	7		
Турунчук	4,1	6,9	4,85	8,1		
Куяльник	4,05	5,5	4,65	7		
Супутниця	3,9	7,7	4,5	9,5		
Подяка	3,8	5,5	4,35	6,2		
Дюк	3,7	5,1	4,6	5,9		

Колеоптиль (перший видозмінений листок у вигляді ковпачка) — орган злакових рослин, який чи не найбільше цікавить селекціонерів та й агрономів-виробничників [6]. Усі вони прагнуть створити чи мати сорти з довгим колеоптилем (90 мм і більше). Такі сорти добре вибиваються у вигляді сходів на поверхню ґрунту при загортанні на глибину, більшу за оптимальну, при сівбі, потреба в чому часто виникає при пересиханні верхнього шару площі [7].

Проведені нами дослідження з визначення залежності довжини колеоптиля від глибини загортання насіння на сконструйованому академіком С. П. Лифенком ростильному приладі показали (табл. 2), що усі сорти істотно різняться за ознакою довжина колеоптиля, а показники мінливості цієї ознаки зростають при глибшій заробці насіння. Тому цю ознаку доцільно використовувати при лабораторному контролі чистоти та ідентифікації сортів.

Колеоптиль, з точки зору еволюції, метамерний орган і у філогенетичному плані являє собою видозмінений листок. Такими ж метамерними органами є стеблові міжвузля, членики колосового стрижня і навіть луски колоса. Саме з цих причин між ними існує тісна прямолінійна кореляція. Короткостеблові сорти мають відповідно короткий колеоптиль, вкорочені міжвузля, недовге листя, щільний колос і переважно яйцеподібну або короткоовальну колоскову луску.

З точки зору досліджень ідентифікаційних сортових ознак пшениці м'якої озимої велике значення мають ознаки забарвлення різних її органів (листіків, вушок, пиляків, колосоносного міжвузля, колоскових лусок, колеоптиля, колоса, остюків, зерна та ін.). По-перше, ці ознаки є якісними і дають легко відрізнявані фенотипи [8]. По-друге, вони є досить стабільними за різних умов вирощування.

Антоціанове забарвлення колеоптиля — дуже зручна ознака для використання у лабораторному сортовому контролі, проте вона має певний діапазон фенотипової мінливості — більш чітко проявляється при

понижених температурах проростання насіння та інтенсивному освітленні. Проте у кожного сорту свій ступінь виявлення цієї ознаки. Так, дослідженнями виявлено, що сорту озимої м'якої пшениці Гурт притаманне інтенсивне антоціанове забарвлення колеоптиля, тоді як у сортів Пошана і Турунчук — помірне забарвлення.

Однією з складно контрольованих ознак слід вважати форму куща в осінньо-зимовий період. Найбільш чітко різняться сорти ярого і озимого типу розвитку — у ярих листки куща стирчать угору, а у озимих — сланкі. Але й озимі не зовсім однорідні. Такі сорти з тривалим періодом яровизації та з високою фотоперіодичною чутливістю переважно сланкі. Ця ознака має дуже високий рівень фенотипової мінливості. При інтенсивній інсоляції рослини більш сланкі, ніж при тривалій вегетації в умовах похмурої погоди. Форма куща рослини з осені також залежить від рівня азоту у ґрунті — у них листя стирчить догори. На збідненому фоні рослини сланкі, а на збагаченому азотом ґрунті мають більш стирчає листя. Цікаво, що улітку положення стеблових листків також залежить від рівня ґрунтового живлення, але реакція має протилежний характер — на підвищеному фоні листя горизонтальне або звисаюче, а на збідненому воно стирчає.

Донедавна серед європейських сортів пшениці озимої зустрічалися лише генотипи з чітко вираженою восковою плівкою. Проте останніми десятиріччями з'явилися так звані «безвосковки» — сорти з яскраво зеленим стеблом та листям (Борвій, Леля). Незважаючи на відсутність розвиненої воскової плівки, яка слугує бар'єром для деяких грибних захворювань та зменшує випаровування води з різних органів рослини, такі сорти можуть бути достатньо посухостійкі та жаростійкі. До того ж вони у більшості стійкі до грибних захворювань стебла та листя завдяки так званому типу стійкості «надчутливість». При сортовому інспектуванні сортів-«безвосковок» чистота і типовість посіву може визначатися з 100%-вою точністю. Але контроль потрібно здійснювати до повного дозрівання зерна, коли ще не зник зелений колір вегетуючої рослини.

Ознаки колоса та зерна. В процесі ідентифікації сортів та інспектування посівів ознаки колоса вважають найбільш важливими та зручними. За ознаками колір колоса, наявність опушення та остюків, забарвлення зернівки, як відомо, визначають основні систематичні категорії — різновидності. Разом з тим у всіх у них свій поліморфізм, отож їх і використовують при ідентифікації сортів.

Довжина колоса сприймається як показник продуктивності сорту, хоча вона лише опосередковано може мати відношення до елементів продуктивності. При ідентифікації і визначенні оригінальності сорту довжина колоса вважається важливою ознакою. Це підтверджується і невисоким ступенем фенотипового варіювання даної ознаки. Нашими дослідженнями виявлено, що коефіцієнт внутрішньосортової мінливості довжини колоса не перевищує 10 % за різних строків та способів сівби.

Щільність колоса залежить від довжини члеників колосового стрижня, а вони є метамерними органами стеблових міжвузлів, звідси й високий ступінь кореляції ознак «висота рослин» та «щільність» і «довжина колоса». В комплексі сортовідрізнявальних ознак, які занесені до усіх методик сортової апробації (тепер сортового інспектування), розміри і форми колоскової луски, кіль та його зубець, ширина і форма плеча колоскової луски вважаються основними морфологічними характеристиками сорту. Вони більш чітко контролюються генотипом у порівнянні з іншими морфологічними ознаками рослин.

Кореляція довжини остюків та кільового зубця як метамерних органів не дуже висока. У більшості випадків безості сорти мають дуже короткий або короткий зубець. З довгим чи остюкоподібним зубцем безостих сортів нема. А остисті сорти з довгим і остюкоподібним зубцем зустрічаються часто. У той же час нерідко зустрічаються остисті сорти з коротким і дуже коротким зубцем. Це свідчить про те, що наявність остей і довжина зубця контролюються, крім основних, ще й деякими іншими генами. У той же час при гібридизації успадковування цих ознак подібне. У гібридів першого покоління домінує безостість, а також ознака «короткий зубець». Вірогідно, що подібність успадкування цих ознак полягає у тому, що гени різні, а характер їх експресії однаковий.

Щодо ширини та форми плеча колоскової луски, то за цими ознаками важко виявити будь-яку закономірність зв'язку з метамерними органами та групову характеристику сортів, хіба що те, що у сортів степового еко типу плече вузьке і скошене. Як ознака вона дуже варіабельна (коефіцієнти внутрішньосортової мінливості за різних строків та способів сівби перевищують 20 %) за фенотипом в порівнянні її в межах колоса, різного колосся однієї рослини і різних рослин.

Квіткова луска за своїми ознаками найменш цікава для визначення відмінності сорту, незважаючи на те, що на неї потрібно звертати увагу за вимогами методики UPOV. Суть в тому, що як внутрішня, так і зовнішня квіткові луски дуже мінливі залежно від місця формування їх у колоску — у першій, другій чи третій квітці. У квітках вищих порядків вони в більшості випадків недорозвинені. Кількість квіток у колоску залежить від генотипу сорту і, крім того, ця ознака дуже мінлива залежно від впливу агротехнічних умов вирощування. Так званий кіль зовнішньої квіткової луски — ознака майже не придатна для сортової ідентифікації. Цей кіль утворюється чи не утворюється залежно від умов наливу зернівки. Якщо зерно формується швидко і крупне за розмірами, то у фазі молочної стиглості воно «видавлює» у зовнішній квітковій лусці так званий кіль. При повільному наливі і формуванні щуплого зерна, а також при опису морфології квіткових лусок із квіток 2–3-го порядку не дає потрібної інформації.

Колір колоса — ознака, як зазначалося вище, дуже важлива, крім того, вона є досить стабільною. При визначенні різновидності прийнято

брати до уваги такі типи забарвлення колоса: білий, червоний, чорний і сіро-димчастий. Всі вони вкрай цікаві з точки зору генетичного контролю. Наприклад, червоний колір колоса і остей контролюється домінантними генами, що локалізовані у всіх трьох геномах (ABD). З цієї причини ознака може розцінюватись як кількісна, так і якісна, — ступінь забарвлення залежить від кількості генів і їх положення в геномах. Цікаво й те, що у сортів різновидності *Ferrugineum* при перестой посіву після дозрівання під частими дощами може зникнути червоне забарвлення колоса, або, навпаки, серед білоколосих сортів за таких умов може з'явитися буре колосся — як наслідок ураження їх фузаріозами. Отже, при польових інспектуваннях сортових посівів ці особливості потрібно мати на увазі.

Не менш цікавою є ознака «фіолетове забарвлення» остюків перед дозріванням рослин. Вона притаманна дуже багатьом сортам. Наприклад, у сорту Пошана в окремі роки фіолетове забарвлення остей проявляється дуже сильно. Поле з посівом цього сорту перед дозріванням рослин в роки з підвищенням інтенсивності інсоляції нагадує собою гігантський фіолетовий килим. При повному дозріванні рослин ця ознака повністю зникає, а в окремі роки вона не проявляється зовсім. У той же час антоціанове забарвлення вушок, колеоптиля, колосоносного міжвузля та інших органів, яким притаманна ця ознака, проявляється щорічно. У зв'язку з великим ступенем варіювання ознаки «фіолетове забарвлення» остюків її можна використовувати як типову для сорту лише при інспектуваннях, що проводяться до початку дозрівання рослин.

Висновки. 1. За рівнем мінливості досліджувані ознаки можна умовно розділити на три групи: 1) ознаки, які є стабільними в фенотиповому прояві (наявність кіля на нижній квітковій лусці, опушення внутрішньої та зовнішньої нижньої колоскової луски, колір зернівки та форма колоса); 2) ознаки, які мінливі в обмеженому діапазоні (коефіцієнт варіації не перевищує 10 %) — висота рослин, довжина колоса, кількість колосків у колосі, щільність колоса, довжина та ширина зернівки, а також відношення довжини зернівки до її ширини; 3) ознаки найбільш мінливі ($CV > 10\%$) — форма та довжина зубця нижньої колоскової луски, форма та ширина плеча нижньої колоскової луски, форма нижньої колоскової луски та довжина остюків або зубців на верхівці колоса.

2. Поряд з ознаками, які входять до переліку ВОС-тесту, для ідентифікації сортів слід використовувати й інші альтернативні ознаки: фіолетове забарвлення остей, антоціанове забарвлення пиляків та колосоносного міжвузля, довжина колеоптиля.

3. Результати досліджень доцільно враховувати при проведенні сортового контролю та інспектуванні насінницьких посівів. Також морфологічні ознаки можна зручно використовувати як генетичні маркери при доборах у селекційній практиці і в первинному насінництві.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Орлюк А. П., Гончарова К. В. Адаптивний і продуктивний потенціали пшениці: Монографія. — Херсон: Айлант, 2002. — 276 с.
2. Шелепов В. В. Морфология, биология и хозяйственная ценность пшеницы / В. В. Шелепов и др. — Мировновка, 2004. — С. 156–166.
3. Методика проведення експертизи та державного сортопробування сортів рослин зернових, круп'яних та зернобобових культур // Охорона прав на сорти рослин: Офіційний бюлетень. — К., 2003. — № 2, ч. 3. — С. 191–204 с.
4. Морфологічні ознаки сільськогосподарських культур для визначення відмінності, однорідності та стабільності сортів рослин // Охорона прав на сорти рослин: Офіційний бюлетень. — К., 2006. — № 1, ч. 3. — 280 с.
5. А. с. СССР 16520. Прибор для определения начальной силы роста растений / С. Ф. Лыфенко. — Опубл. в 1964. — Бюл. № 17.
6. Лыфенко С. Ф., Ериняк Н. И. Взаимосвязь между высотой растений, длиной coleoptily и полевой всхожестью у различных форм озимой пшеницы // Научно-технический бюллетень ВСГИ. — Одесса, 1979. — Вып. 33. — С. 40–44.
7. Лыфенко С. Ф. Полукарликовые сорта озимой пшеницы / Лыфенко С. Ф. — К.: Урожай, 1987. — 192 с.
8. Генетический анализ антоциановой окраски стебля и пыльников у растений мягкой пшеницы / Л. И. Лайкова, В. С. Арбузова, Т. Т. Ефремова, О. М. Попова // Генетика. — 2005. — Том 41, N10. — С. 1428–1433.

Надійшла 27.10.2014.

UDC 633.11:631.527

Shpikuliak Ye. A. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

MANIFESTATION AND VARIABILITY LEVEL OF VARIETAL IDENTIFYING TRAITS IN WINTER BREAD WHEAT

The results of numerous experiments on the degree of manifestation the distinguishing traits in wheat varieties of bread winter and phenotypic variability was found that they differ significantly by level of variability. It has been proposed to divide them into three groups: 1) characteristics that are stable in the phenotypic manifestation (the presence of the keel on the bottom flower glumes, pubescence of the inner and outer lower glume, the color of the caryopsis and the shape of the spike); 2) characteristics that are variable in a limited range (the coefficient of variation does not exceed 10 %) — the height of the plant, the length of the spike, number of spikelets per spike, the density of the spike, the length and width of the caryopsis, also, the ratio of the length of the caryopsis to its width; 3) characteristics are most variable ($CV > 10\%$) — the shape and length of prong of the lower glume, the shape and length of arm of the lower glume, the form of lower glume and the length of

awns or prong on the top of the spike. For identification of varieties necessary to use a group of concrete characteristics taking into account the level of their variability. In addition, the results of research give an opportunity to use morphological features as genetic markers for selection (when selecting) in breeding practice and primary seed production. Also it is expedient to take into account them during the carrying out varietal control and inspection of seed-growing crops. It will give an opportunity to strengthen the legal protection of varieties and efficient use them in production.

УДК 633.11:631.527

Шпикуляк Е. А.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ И УРОВЕНЬ ИЗМЕНЧИВОСТИ СОРТОВЫХ ИДЕНТИФИКАЦИОННЫХ ПРИЗНАКОВ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ

Результатами многочисленных опытов по степени проявления отличительных признаков у сортов пшеницы мягкой озимой и их фенотипической изменчивости было установлено, что все они существенно различаются по уровню изменчивости. Было предложено разделить их на три группы: 1) признаки, которые являются стабильными в фенотипических проявлениях (наличие килля на нижней цветочной чешуе, опушение внутренней и внешней нижней колосковой чешуи, цвет зерновки и форма колоса); 2) признаки, которые изменчивы в ограниченном диапазоне (коэффициент вариации не превышает 10 %) — высота растений, длина колоса, количество колосков в колосе, плотность колоса, длина и ширина зерновки, а также отношение длины зерновки к ее ширине; 3) признаки наиболее изменчивы ($CV > 10\%$) — форма и длина зубца нижней колосковой чешуи, форма и ширина плеча нижней колосковой чешуи, форма нижней колосковой чешуи и длина остей или зубцов на верхушке колоса. Для идентификации сортов следует использовать группу конкретных признаков с учетом уровня их изменчивости. К тому же результаты исследований дают возможность использовать морфологические признаки как генетические маркеры при отборах в селекционной практике и в первичном семеноводстве. Также их целесообразно учитывать при проведении сортового контроля и инспектировании семеноводческих посевов. Это даст возможность усилить правовую защиту сортов и эффективное использование их в производстве.

УДК 633:631.527

І. Б. ЛЕГКУН, ст. наук. співроб.,
СГІ–НЦНС, Одеса
e-mail: legkuni@mail.ru

ОЦІНКА ТА ДОБІР У СЕЛЕКЦІЇ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЮ НА СТІЙКІСТЬ ДО САЖКОВИХ ПАТОГЕНІВ

*Подається спосіб створення провокаційного інфекційного фону для оцінки селекційного матеріалу озимого ячменю на групову стійкість до популяцій чорної летючої (*Ustilago nigra*) та твердої (*Ustilago hordei*) видів сажки з тестовим (інвазійним) оцінюванням на етапі конкурсного сортовипробування. Спосіб дозволяє без суттєвих матеріальних витрат об'єктивно оцінювати та добирати селекційний матеріал на стійкість до місцевих популяцій чорної летючої та твердої видів сажки. За допомогою пропонованого способу створено сорти: Академічний, Айвенго (2012), Буревій (2013), Снігова королева (2014), Дев'ятий вал (2015) та голозерний сорт-дворучка Президент.*

Ключові слова: озимий ячмінь, сажкові захворювання, метод, спосіб, резистентність, добір.

Вступ. В основі вивчення і практичного використання будь-якої системи стійкості до хвороб лежать методи інфікування. Однак методи штучного інфікування сажковими інфекціями не можуть застосовуватися як основні в селекції на імунітет через великі затрати людського ресурсу й часу [1]. Найбільшою перешкодою є невисока ефективність усіх без винятку методів, розроблених на основі різних модифікацій апаратів і пристроїв для штучного нанесення інфекції кожного виду патогена [2].

Загальновідомо, що ячмінь належить до строгих самозапилювачів [3]. За нашими спостереженнями, озимий ячмінь як культуру варто віднести до умовних (факультативних) самозапилювачів. Високим ступенем «відкритого» цвітіння (викидання пиляків з колоска назовні) пояснюється і високий рівень зараження летючими видами сажки нестійких сортів озимого ячменю [4]. Особливо помітне це явище своїми наслідками на посівах колекційних розсадників.

У зв'язку з високим рівнем ураження летючими видами сажки в природних умовах нами було висунуте припущення про можливість використання природного інфікування у селекції озимого ячменю для оцінки та добору резистентних генотипів [5].

Методика досліджень. Оцінка та добір на стійкість до «летючих» та твердої сажки проводилися на штучному інфекційному фоні. Для накопичення сажкової інфекції використовувалась селекційна лінія Паллідум

90–55–74 з рівнем абсолютного сумарного ураження 34,1 % [7]. Насіння цієї лінії висівалося через кожні 20 ділянок (30 метрів) в усіх ланках селекційного процесу для створення штучного фону патогена. У конкурсному сортовипробуванні проводилась тестова оцінка ліній при штучному зараженні чорною летючою (*Ustilago nigra*) та твердою (*Ustilago hordei*) сажками методом половинок у 2007–2013 роках.

У такий спосіб ми закладали два блоки досліду, де за методом половинок генотипи одночасно оцінювали на стійкість до чорної летючої та твердої видів сажки.

При оцінюванні обох блоків вели облік зразків, стійких лише до твердої або до чорної летючої сажки. Штучно (інвазійно) інокулювали зерно після видалення квіткових плівок. Збирання ураженого колосся як чорною летючою, так і твердою видами сажки проводилося на посівах як ярих, так і озимих сортів. Підготовку інокулюма кожного виду збудника здійснювали працівники відділу фітопатології інституту [6].

Результати. Посилаючись на попередні дослідження відділу селекції та насінництва ячменю СГІ–НЦНС, зазначимо, що серед розповсюджених у південній частині Одеської області популяцій летючих видів сажки на даний час абсолютно переважає чорна сажка [7].

Отже, подальша робота щодо застосування способу інфікування вестиметься за типом зараження чорною летючою та твердою видами сажки. Суть селекційного процесу на штучному інфекційному фоні в селекції озимого ячменю на резистентність до сажкових захворювань полягає в наступному.

Використання ефективних джерел стійкості до рас сажкових патогенів, розповсюджених у зоні селекційного закладу, в якості донорів у нашому випадку були взяті зразки ярого ячменю с. і. 13664 та Джау Кабутак.

Включення ефективних донорів резистентності до складу всіх комбінацій схрещувань з подальшим доббором генотипів–носіїв генів стійкості на всіх етапах селекційного процесу.

Створення рівномірного інфекційного фонового навантаження у розсадниках забезпечувалося шляхом рівномірного розташування ділянок накопичувача сажкової інфекції лінії Паллідум 90–55–74.

У конкурсному сортовипробуванні проводилась тестова оцінка ліній при інвазійному зараженні популяціями чорної летючої та твердої видів сажки.

Оцінки та добори резистентних до летючих видів сажки фенотипів проводили в умовах штучно посиленого інфекційного навантаження. При цьому існуючий природний фон посилювався споровою інфекцією, що накопичувалася на рослинах фонові лінії Паллідум 90–55–74. Значною перевагою даної лінії є скоростиглість, що забезпечує своєчасну появу інфекції до масового цвітіння досліджуваних номерів.

В усіх ланках селекційного процесу застосовували типову схему розміщення фонового накопичувача (2002–2014), за якою кожна ділянка інфікувалася приблизно за однакового інфекційного навантаження (рис.).

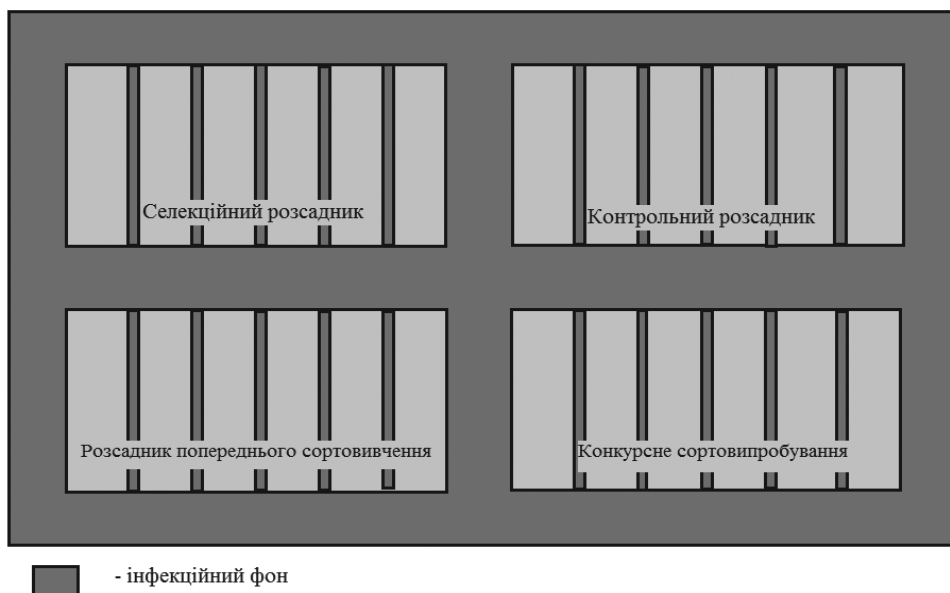


Рис. Схема розміщення накопичувача сажкової спорової інфекції у селекційному посіві

Таблиця 1

Відсоток неушкоджених селекційних номерів за результатами польового оцінювання розсадників, по роках

Розсадник	$\bar{X}$ 2009		$\bar{X}$ 2010		$\bar{X}$ 2014	
	кількість, шт.	%	кількість, шт.	%	кількість, шт.	%
Гібридний	268	73,6	274	67,3	259	72,5
Гібридних популяцій	232	39,4	216	51,7	220	47,3
Селекційний	11900	82,5	10100	85,0	9500	83,6
Контрольний	474	87,3	464	83,3	472	89,5
Попереднє СВ	44	87,5	72	82,5	55	83,5
Конкурсне СВ	38	91,3	60	90,9	36	90,5

За результатами реакції селекційних номерів на фонове навантаження щороку в усіх розсадниках проводили жорстке польове вибракування. Завдяки цьому з кожним етапом селекції кількість резистентних генотипів відносно загального обсягу селекційного матеріалу у наступних розсадниках зростало (табл. 1).

При оцінюванні селекційного матеріалу використовували спосіб провокаційного інфекційного фону для оцінки селекційного матеріалу озимого ячменю на групову стійкість до популяцій летючих та твердої видів сажки з інвазійним тестуванням на етапі конкурсного сортовипробування.

Для остаточного визначення рівня імунітету сортотразків у конкурсному сортовипробуванні проводили тестове оцінювання на інвазійному фоні — штучне зараження насіння популяціями спор (табл. 2, 3).

Таблиця 2

Тестове оцінювання ліній конкурсного сортовипробування на стійкість до місцевої популяції у 2009 р.

КСВ №	Стійкість до <i>U. nigra</i> на фоні		КСВ №	Стійкість до <i>U. nigra</i> на фоні		КСВ №	Стійкість до <i>U. hordei</i> на фоні		КСВ №	Стійкість до <i>U. hordei</i> на фоні	
	при-род.	штучн.		при-род.	штучн.		при-род.	штучн.		при-род.	штучн.
1	–	–	20	–	–	1	–	–	20	–	–
2	–	–	21	–	–	2	–	–	21	–	–
3	–	–	22	–	–	3	–	–	22	–	–
4	–	–	23	–	–	4	–	–	23	–	–
5	–	–	24	–	–	5	–	–	24	–	–
6	–	–	25	–	–	6	–	–	25	–	–
7	–	–	26	–	–	7	–	–	26	–	–
8	–	–	27	–	+	8	–	–	27	+	+
9	–	–	28	–	–	9	–	–	28	–	–
10	+	+	29	–	–	10	+	+	29	–	–
11	–	–	30	–	–	11	–	–	30	–	–
12	–	–	31	–	–	12	–	–	31	–	–
13	–	–	32	–	–	13	–	–	32	–	–
14	–	–	33	–	–	14	–	–	33	–	–
15	–	–	34	–	–	15	–	–	34	–	–
16	–	–	35	+	+	16	–	–	35	+	+
17	–	–	36	–	–	17	–	–	36	–	–
18	+	+	37	–	–	18	–	–	37	–	–
19	–	–	38	–	–	19	–	–	38	–	–

Тестове оцінювання після ротації селекційного матеріалу, що включає всі ланки селекції, показало високий рівень достовірності польової оцінки на прикладі конкурсного сортовипробування (89,5 %) (табл. 2). З 38 сортозразків, що були випробувані у КСВ 2009 року, 4 виявилися сприйнятливими, причому за польовою оцінкою ідентифіковано 3, тобто тестове дослідження дозволило лише відкоригувати остаточну оцінку. Селекційний сортозразок № 37 у 2010 році було передано до ДСВ під назвою Снігова королева.

Аналогічні результати одержано у 2011 році при тестовому оцінюванні конкурсного сортовивчення (табл. 3).

Із 60 зразків 90 % виявилися стійкими, з 6 сприйнятливих — 5 сприйнятливих до твердої сажки, що підтверджує факт зчепленого успадкування домінантних генів *Rung* і *Ruh* до збудників *Ustilago nigra* та *Ustilago hordei*.

Селекційний сортозразок № 11 у 2011 році було передано до державного сортовивчення під назвою Дев'ятий вал.

У попередніх роботах [7] повідомлялося про домінантний характер прояву близького до описаних донорів. Отже, загальний рівень рецесивних гомозигот (уражених генотипів), що спостерігалися у конкурсному,

Таблиця 3

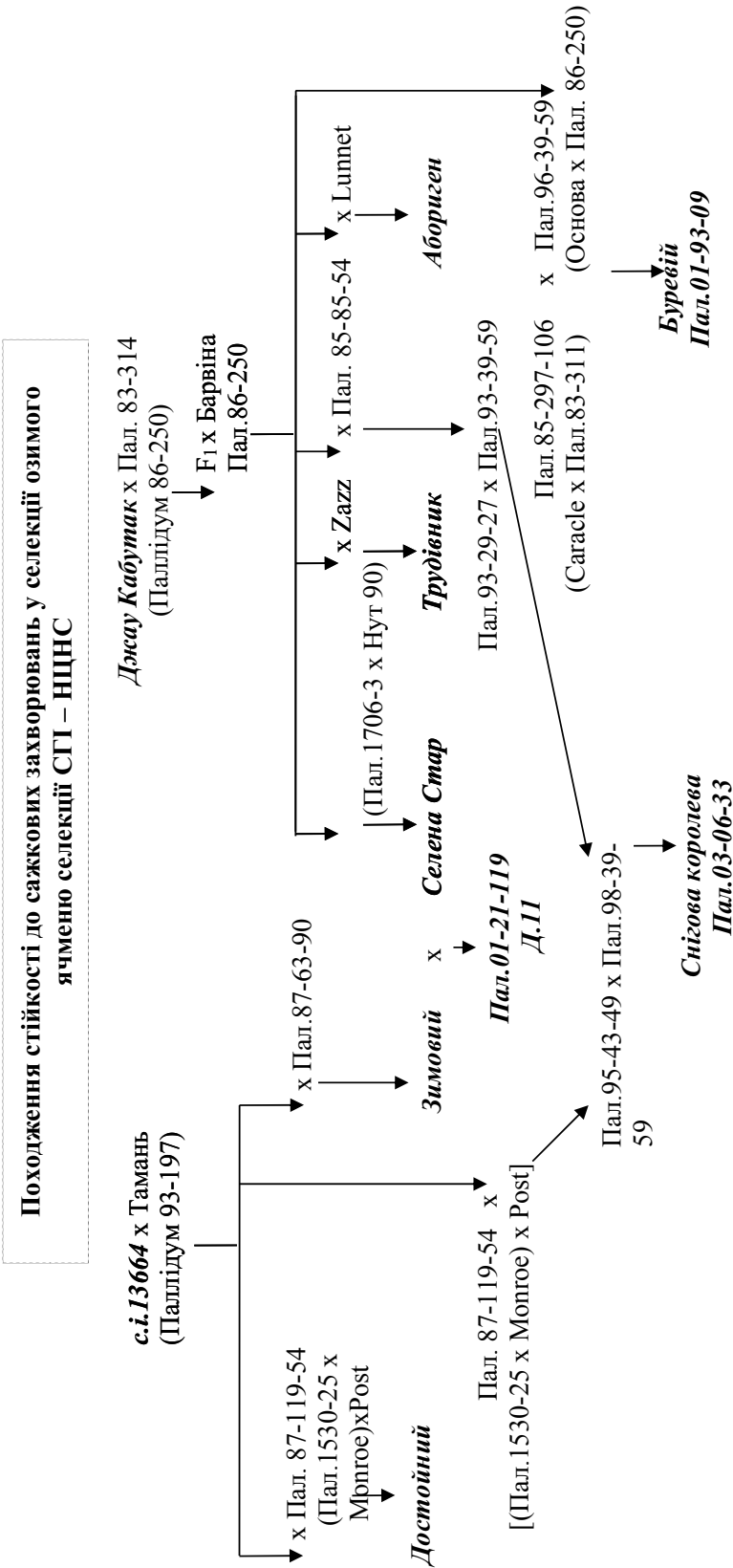
Тестове оцінювання ліній конкурсного сортовипробування на стійкість до місцевої популяції у 2011 році

КСВ №	Стійкість до <i>U. nigra</i> на фоні		КСВ №	Стійкість до <i>U. nigra</i> на фоні		КСВ №	Стійкість до <i>U. hordei</i> на фоні		КСВ №	Стійкість до <i>U. hordei</i> на фоні	
	при-род.	штучн.		при-род.	штучн.		при-род.	штучн.		при-род.	штучн.
1	–	–	31	–	–	1	–	–	31	–	–
2	–	–	32	–	–	2	–	–	32	–	–
3	–	–	33	–	–	3	–	–	33	–	–
4	–	–	34	–	–	4	–	–	34	–	–
5	–	–	35	–	–	5	–	–	35	–	–
6	–	–	36	–	–	6	–	–	36	–	–
7	–	–	37	–	–	7	–	–	37	–	–
8	–	–	38	–	–	8	–	–	38	–	–
9	–	–	39	–	–	9	–	–	39	–	–
10	–	–	40	–	–	10	–	–	40	–	–
11	–	–	41	–	+	11	–	–	41	–	+
12	–	–	42	+	+	12	–	–	42	+	+
13	–	–	43	–	–	13	–	–	43	–	–
14	–	–	44	–	–	14	–	–	44	–	–
15	–	–	45	–	–	15	–	–	45	–	–
16	–	–	46	–	–	16	–	–	46	–	–
17	–	–	47	–	+	17	–	–	47	+	+
18	–	–	48	+	+	18	–	–	48	+	–
19	–	–	49	–	+	19	–	–	49	–	–
20	–	–	50	–	–	20	–	–	50	–	–
21	–	–	51	–	–	21	–	–	51	–	+
22	–	–	52	–	–	22	–	–	52	–	–
23	–	–	53	+	+	23	–	–	53	–	–
24	–	–	54	+	+	24	–	–	54	–	–
25	–	–	55	+	+	25	–	–	55	–	–
26	–	–	56	+	+	26	–	–	56	–	–
27	+	+	57	+	+	27	+	+	57	–	–
28	–	–	58	+	+	28	–	–	58	–	–
29	–	–	59	+	+	29	–	–	59	–	–
30	–	–	60	–	+	30	–	–	60	–	–

сортівипробуванні залежав від кількості гетерозигот на початкових ланках селекції, що певним чином ускладнює селекційну роботу на стійкість на основі пропонованих донорів.

За допомогою кореляційних залежностей виявлений тісний зв'язок між продуктивністю колоса та ділянки із стійкістю до сажкових патогенів, яка різко знижує вірогідність виділення продуктивних імунних генотипів у простих комбінаціях схрещування. Єдиним можливим шляхом одержання імунних продуктивних трансгресій — переривчаста ступінчаста гі-

Схема



Таблиця 4

Характеристика нових сортів озимого ячменю в сортовивченні СГІ,
2006–2014 рр.

Сорт	Тривалість вегета- ційного періоду, дні	Висота рос- лин, см	Тип розвитку	Зимостій- кість, бал	Стійкість до вилягання, бал	Посухостій- кість, бал	Маса 1000 зерен, г	Продуктив- ність, ц/га
Росава st	253±2,3	124±5,3	дворучка	9,0±0,0	7,0±0,9	6,6±1,3	39,2±2,7	51,9±14,9
Основа st	251±1,4	112±4,7	дворучка	9,0±0,0	8,0±0,7	6,3±1,1	38,5±1,5	55,4±12,2
Зимовий	249±1,1	107±3,8	озимий	9,0±0,0	8,3±0,3	6,3±1,1	38,4±0,7	57,2±14,3
Достойний	244±1,6	104±3,4	дворучка	9,0±0,0	8,0±0,5	8,0±0,7	42,0±0,9	59,3±8,7
Трудівник	247±1,8	102±2,9	озимий	7,7±1,3	9,0±0,0	7,0±1,2	41,4±0,8	56,9±13,8
Селена Стар	245±1,9	121±4,2	озимий	9,0±0,0	7,3±0,7	8,3±0,2	47,5±3,7	55,7±11,8
Абориген	248±1,4	106±2,7	дворучка	8,6±0,5	8,3±0,3	6,6±1,1	40,3±0,6	51,7±11,5
Академічний	247±1,3	102±3,7	озимий	7,7±1,3	9,0±0,0	7,0±0,7	42,6±0,3	57,7±18,7
Буревій	247±1,4	104±2,9	озимий	9,0±0,0	9,0±0,0	7,3±0,5	43,1±1,2	80,6±6,9
Снігова королева	249±1,9	83±3,1	дворучка	9,0±0,0	9,0±0,0	7,3±0,6	43,1±0,4	78,9±2,7
Дев'ятий вал	247±1,5	119±4,3	дворучка	9,0±0,0	9,0±0,0	7,7±0,3	45,1±0,6	89,7±8,9
Презент (голозерний)	245±1,3	82±2,3	дворучка	9,0±0,0	9,0±0,0	8,0±0,5	33,1±1,2	53,1±1,3

бридизація, яка може допомогти ослабити генетичний зв'язок алельних локусів стійкості із побічними негативними ознаками (схема).

Багатоступінчастою гібридизацією були створені на штучному інфекційному фоні сорти із груповою стійкістю до місцевих популяцій рас чорної летючої та твердої видів сажок (Абориген, Академічний, Айвенго, Буревій, Снігова королева, Дев'ятий вал, Валькірія (ДСВ), Презент (ДСВ)) без будь-яких додаткових затрат фінансів і часу (табл. 4).

Перше, що можна помітити при порівнянні сортів Росава і Основа з сортами, створеними у відділі пізніше, це показники пластичності нових генотипів. За стійкістю до вилягання і посухостійкістю нові сорти не поступаються старим. Завдяки скоростиглості вони краще уникають запалу зерна під час літньої посухи. За зимостійкістю такі сорти, як Трудівник, Абориген і Академічний, дещо поступаються стандартам (табл. 4).

Багаторічне вивчення показника маси 1000 зерен показало, що у сортів Росава і Основа експресія ознаки тісно пов'язана з умовами року, тому за цією ознакою вони не можуть вважатися сталими, натомість нові сорти — Селена Стар, Абориген, Буревій, Снігова королева та Дев'ятий вал показують картину протилежну. За роки вивчення, які значно різнилися за погодними умовами, коливання бачимо на рівні 3–5 %. Нові сорти не поступаються попереднім Росаві та Основі за продуктивністю. Новинки нашого відділу Снігова королева та Дев'ятий вал вирізнялися і високим потенціалом урожайності: 9,4–11,6 т/га.

Значною цінністю сортів Буревій, Снігова королева та Дев'ятий вал є їхня висока пластичність і стійка продуктивність протягом років вивчення.

Висновки. Апробовано ефективний спосіб провокаційного інфекційного фону для оцінки селекційного матеріалу озимого ячменю на групову стійкість до популяцій летючої чорної (*Ustilago nuda* U. *nigra* Tapke (= *U. avenae* (Pers.) Rostr) та твердої (*Ustilago hordei* (Pers.) Lagerh) видів сажки з інвазійним тестуванням на етапі конкурсного сортовипробування. Спосіб дозволяє без додаткових матеріальних витрат максимально об'єктивно проводити польову оцінку на стійкість до місцевих популяцій сажки, починаючи з перших ланок селекційного процесу.

За допомогою пропонованого способу в СГІ–НЦНС створено низку сортів: Академічний, Айвенго (2012), Буревій (2013), Снігова королева (2014), Дев'ятий вал (2015), Валькірія (ДСВ з 2014) та голозерний сорт-дворучка Презент (ДСВ з 2015).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Лінчевський А. А. Результати селекції озимого ячменю на стійкість до збудників чорної (*Ustilago nuda*), твердої (*Ustilago hordei*) та летючої (*Ustilago nuda*) видів сажки / О. М. Шеремет, І. Б. Легкун // Зб. наукових праць СГІ–НЦНС. — Одеса, 2010. — Вип. 16 (56). — С. 37–43.
2. Степановских А. С. Головные болезни ячменя / А. С. Степановских. — Челябинск: Южно-Уральское книжное издательство, 1990. — 397 с.

3. Трофимовская А. Я. Ячмень / Эволюция, классификация, селекция. — Издательство Колос, ЛО, 1972.
4. Mantle P. G. Further observations on abnormal reaction of wheat to loose smut / P. G. Mantle // Trans. Brit. Micol. Soc. — 1961. — Vol. 44, № 4. — P. 529–545.
5. Кривченко В. И., Мягова Д. В., Щелко Л. Г., Тимошенко З. В. Изучение устойчивости зерновых культур и расового состава возбудителей головневых болезней. Методическое указание. — Л., 1978. — 107 с.
6. Шеремет О. М. Сажкові хвороби озимого ячменю і селекція на резистентність до них / Шеремет О. М., Дубініна Л. О., Легкун І. Б. // Вісник аграрної науки Південного регіону. — Одеса, 2009. — Вип. 10. — С. 40–46.
7. Шеремет О. М. Успадковування стійкості до летючої чорної (*Ustilago nigra*) та твердої (*Ustilago hordei*) видів сажки в селекції озимого ячменю / О. М. Шеремет, І. Б. Легкун // Бюл. Інституту зернового господарства. — Дніпропетровськ, 2010. — Вип. 39. — С. 117–121.

Надійшла 15.11.2014

UDC 633:631.527

Legkun I. B. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

EVALUATION AND SELECTION FOR RESISTANCE TO SMUT PATHOGENS IN WINTER BARLEY BREEDING PROGRAM

The method of a natural infection under a strong background in the field and testing (artificial) evaluation of the genotypes are described allowing without significant material costs maximum objectively to conduct a field evaluation and selection of breeding material for resistance to local populations of loose smut (*Ustilagonigra*) and covered smut (*Ustilago hordei*) species.

With the proposed method a number of varieties have been developed — Akademichnyi, Aivenho (2012), Burevii (2013), Snihova koroleva (2014), Deviatyival (2015) and hulless alternate variety Present.

УДК 633:631.527

Легкун И. Б.

ОЦЕНКА И ОТБОР В СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЯ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ГОЛОВНЕВЫМ ПАТОГЕНАМ

Приведен способ создания провокационного инфекционного фона для оценки селекционного материала озимого ячменя на групповую устойчивость к популяциям черной пыльной (*Ustilago nigra*) и твердой (*Ustilago hordei*) видам головни с тестовым (инвазийным) оцениванием

на этапе конкурсного сортоиспытания. Способ позволяет без больших материальных затрат объективно оценивать и отбирать селекционный материал, устойчивый к местным популяциям пыльной черной и твердой видов головни.

С помощью предложенного способа созданы сорта: Академичный, Айвенго (2012), Буревий (2013), Снежная королева (2014), Девятый вал (2015) и голозерный сорт-двуручка Презент.

УДК 631.527:633.34

В. І. СІЧКАР, проф., д. б. н., гол. наук. співроб.,

Г. Д. ЛАВРОВА, к. б. н., пров. наук. співроб.,

О. І. ГАНЖЕЛО, ст. наук. співроб.

О. О. МОЛОДЧЕНКОВА, д. б. н., зав. лаб.,

В. Г. АДАМОВСЬКА, к. б. н., ст. наук. співроб.

СГІ–НЦНС, Одеса

E-mail: bobovi.sgi@ukr.net

ЕФЕКТИВНІСТЬ СЕЛЕКЦІЇ СОЇ НА ПІДВИЩЕННЯ ПОСУХОСТІЙКОСТІ ТА ПОКРАЩЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАСІННЯ

Протягом ряду посушливих років була проведена оцінка великого набору сортів сої за урожайністю і біохімічними показниками якості насіння. Виділені сорти, які вирізняються цінним комплексом господарсько важливих ознак за умов дефіциту вологи і підвищених температур повітря. Шляхом гібридизації створені нові лінії сої, що характеризуються підвищеною продуктивністю за посушливих умов і високим рівнем білковості насіння.

Ключові слова: соя, урожайність, посухостійкість, вміст білка, вміст олії, активність інгібіторів трипсину та ліпоксигенази.

Вступ. Протягом останніх десятиріч в Україні паралельно з бурхливим зростанням виробництва сої спостерігаються помітні зміни погодних факторів, які особливо посилились у степовій та лісостеповій зонах нашої країни. Суттєво зростає температура повітря у весняний і літній періоди, почастишали тривалі міждошові інтервали, що призводять до одночасної негативної дії на рослини температурного та водного стресів. У зоні нашого селекційного центру такі умови склалися останніми трьома роками, причому посуха 2014 року була найбільш жорсткою. Прогнози свідчать про те, що такі погодні зміни відбуватимуться і в перспективі.

У зв'язку з цим сільськогосподарське виробництво потребує високоадаптивних сортів, головною особливістю яких має бути стабільність врожаю. Характер погодних умов зони нашого селекцентру дозволяє добирати форми такого типу, оскільки майже щорічно тут виникають посушливі періоди у різні фази вегетаційного росту рослин. Тому головна мета нашої селекційної програми полягає у поєднанні стабільності врожаю сої з позитивною його реакцією на кліматичні зміни погодних умов та інтенсивні фактори технології вирощування. Покращення якості насіння сої є ще одним важливим завданням, оскільки з кожним роком зростає попит на соєву сировину для переробки на харчові та кормові продукти.

Матеріал і методика. Матеріалом для вивчення були 1100 сортів вітчизняної та зарубіжної селекції, які вивчали протягом 2009 та 2012–2014 років у колекційному розсаднику, 50 сортів різних селекційних установ, переважно України та Російської Федерації, які вирощували в розсаднику екологічного випробування протягом 2010–2014 років, та понад 500 селекційних ліній, створених у нашому відділі. У колекційному розсаднику рослини висівали однорядковими 1,5-метровими ділянками з міжряддями 45 см. Стандартом був сорт селекції СГ Аркадія одеська, який протягом майже 30 років в умовах суходолу півдня України постійно забезпечує підвищений урожай та виділяється високим вмістом білка в насінні. У розсаднику екологічного випробування сорти вирощували на чотирирядкових 10-метрових ділянках у 5 повтореннях. Стандартами були сорти Васильківська (для скоростиглої групи) і Ятрань (для ранньостиглої групи). Польові дослідження проводили на експериментальній базі Селекційно-генетичного інституту «Дачна».

Таблиця 1

Метеорологічні умови в період вегетації сої, 2009–2014 рр.

Показ- ник	Рік	Місяць					Сума	ГТК*
		кві- тень	травень	червень	липень	сер- пень		
Опа- ди, мм	2009	0,0	40,1	9,9	35,9	6,3	92,2	0,31
	2010	48,2	50,0	34,0	102,5	32,0	266,7	0,87
	2011	28,5	27,5	92,6	25,1	3,0	176,7	0,62
	2012	9,0	55,5	28,3	10,8	14,0	117,7	0,37
	2013	39,1	4,8	49,1	79,6	3,6	176,2	0,58
	2014	4,6	26,2	67,6	58,4	14,2	171,0	0,57
	середньо- багаторіч- на норма	27,0	35,0	55,0	46,0	34,0	197,0	0,74
Тем- пера- тура пові- тря, °C	2009	11,1	16,4	21,4	24,5	22,3	2934,2	
	2010	10,3	16,7	21,9	24,5	26,2	3055,4	
	2011	9,7	16,3	20,9	23,5	22,4	2846,2	
	2012	10,9	19,4	22,4	25,7	24,0	3141,1	
	2013	11,2	19,1	21,9	23,1	23,9	3042,1	
	2014	11,1	17,2	20,7	24,2	24,0	2981,4	
	середньо- багаторіч- на норма	9,0	15,3	19,6	21,4	21,2	2652,9	

* — ГТК = (Σ опадів / Σ акт. температур) $\times 10$.

За Г. Т. Селяніновим і С. А. Сапожніковою [3], величина ГТК за літній період більше 1,6 характеризує надмірно вологу зону, 1,6–1,3 — лісову вологу зону, 1,3–1,0 — Лісостеп (недостатнє зволоження), 1,0–0,7 — Степ (посушливу зону), 0,7–0,4 — сухий Степ (дуже посушливу зону), 0,4 і менше — напівпустелю і пустелю.

Погодні умови у роки випробувань дуже відрізнялись (табл. 1), проте навіть у найкращому з них 2010 році режим зволоження не був сприятливий для сої, адже для формування стабільних врожаїв цієї культури за період вегетації необхідно від 350 до 400 мм опадів [1]. Середня температура повітря протягом років випробування була вищою за середню багаторічну. Особливо посушливими виявились 2009, 2012, 2013 і 2014 роки. Характерною особливістю цих років були дуже високі температури повітря у липні та серпні, які перевищували середні багаторічні значення на 3–4 °С, внаслідок чого ті незначні опади у вигляді дощу були неефективні. У результаті цього урожайність всіх сортів різко знижувалась, особливо у 2014 році.

Біохімічний аналіз насіння сої проводили в лабораторії біохімії СГІ за загальноприйнятими методиками, статистичний — за Б. А. Доспеховим [2].

Результати та обговорення. З одержаних даних можна зробити висновки, що зона, де знаходиться СГІ, є зручним полігоном для виявлення найбільш адаптованих до посушливих умов генотипів сої на різних етапах вегетації в природному середовищі. Селекційний процес потребує постійного поповнення новими донорами та джерелами господарсько цінних ознак. Лише програма, заснована на широкій генетичній базі, може мати суттєві селекційні досягнення. Тому ми щорічно випробовуємо в нашій зоні значний набір нових сортів, а також велику кількість колекційних сортозразків із різних країн світу. Після ґрунтовного вивчення кращі із них залучаємо до гібридизації. Жорстка посуха протягом липня–серпня 2012, 2013 і 2014 років призводила до опадання бобів, їхньої шуплості та поганого розвитку насіння. Дозрівали усі сорти майже одночасно: у першій — на початку другої декади серпня. Але такі погодні умови дозволили виявити найбільш посухостійкі сорти.

У скоростиглій групі (22 сорти) за комплексом господарсько цінних ознак кращими були Ворскла, Агат, Спринт, Селекта, Аметист, Діона, Протеїнка, Романтика, Медея (табл. 2). Вони суттєво перевищували стандарт за урожайністю у посушливих 2012 і 2013 роках. Проте у більш сприятливі за погодними умовами 2010 та 2011 роки тільки Ворскла та Протеїнка дали урожай на рівні стандартного сорту. Найбільш стабільними за урожайністю були сорти Селекта, Аметист, Діона та Медея.

У ранньостиглій групі за результатами 5 років випробування кращі результати показали сорти вітчизняної селекції Альтаїр, Ювілейна, Феміда, Валюта, Берегиня, Знахідка, Данко, Сяйво (табл. 3). В той же час сорти американської та канадської селекції, як більш пізньостиглі, суттєво страждали за умов нашої зони. Так, у 2014 році сорти Ламберт і Медісон дали всього 0,2 ц/га насіння, яке було дуже низької якості.

Найменше знизили урожайність за посушливих умов Сяйво, Ювілейна, Валюта і Данко. Сорти ж Мельпомена, Альтаїр, Берегиня, Знахідка і стандарти Ятрань і Васильківська належать до групи сортів

Таблиця 2

Урожайність сортів сої скоростиглої групи в екологічному сортовипробуванні,
ц/га, 2010–2014 рр.

Сорт	2010	2011	2012	2013	2014	Середня		
						за 2010– 2011 роки	за 2012– 2014 роки	різни- ця, %
Васильківська, ст.	15,4	9,1	2,7	5,0	1,40	12,2	3,0	75,4
Ворскла	10,9	13,0*	4,2*	8,1*	1,75	11,9	4,7	60,5
Спринт	10,4	12,6*	5,9*	5,2	2,97*	11,5	4,7	59,1
Протеїнка	14,6	9,8	6,2*	4,1	2,13*	12,2	4,1	66,4
Романтика	12,3	10,4	4,9*	7,3*	1,80	11,3	4,7	58,4
Медея	9,4	11,4*	4,0*	9,3*	1,80	10,4	5,0	51,9
Аметист	8,5	11,7*	4,8*	8,3*	2,23*	10,1	5,1	49,5
Агат	13,2	9,1	5,4*	4,7	2,99*	11,1	4,4	60,4
Діона	11,6	8,5	6,1*	7,5*	1,30	10,0	5,0	50,0
Ізумрудна	12,6	8,6	5,0*	5,4	0,53	10,6	3,6	66,0
Л-2 (Орел)	7,8	11,5*	4,3*	6,9*	1,42	9,6	4,2	56,2
Селекта	7,8	9,0	5,6*	5,2	2,32*	8,4	4,4	47,6
НІР ₀₅	2,3	1,7	1,2	0,8	0,6			

* — суттєво перевищує стандарт при $P \geq 0,05$.

Таблиця 3

Урожайність сортів сої ранньостиглої групи в екологічному сортовипробуванні,
ц/га, 2010–2014 рр.

Сорт	2010	2011	2012	2013	2014	Середня		
						за 2010– 2011 роки	за 2012– 2014 роки	різни- ця, %
Ятрань, ст.	12,4	11,7	3,0	2,8	1,5	12,0	2,4	80,0
Альтаїр	19,4*	10,4	5,9*	3,9*	2,1*	14,9	4,0	73,2
Ювілейна	14,1	11,8	6,9*	4,0*	2,2*	12,9	4,4	65,9
Феміда	12,9	10,2	5,2*	3,8*	1,2	11,5	3,4	70,4
Валюта	15,0*	7,0	5,6*	3,6	1,5	11,0	3,6	67,3
Берегиня	14,6	7,8	5,6*	2,3	0,8	11,2	2,9	74,1
Знахідка	13,5	9,1	2,4	3,6	2,4*	11,3	2,8	75,2
Данко	14,4	6,2	4,7*	3,4	1,6	10,3	3,2	68,9
Сяйво	15,1*	4,1	4,4*	3,9*	1,7	9,6	3,3	65,6
Мельпомена	13,7	7,8	2,4	2,6	0,4	10,7	1,8	83,2
НІР ₀₅	2,3	1,7	1,2	1,0	0,6			

* — суттєво перевищує стандарт при $P \geq 0,05$.

інтенсивного типу, які добре відкликаються як на покращення погодних умов, так і на інтенсивні фактори технології вирощування. Про це свідчать і результати, отримані у виробничих умовах. Так, на зрошенні Ятрань у 2011 році дала урожай 42,5 ц/га у ТОВ «СіНа» Каховського району Херсонської області, а Сяйво і Васильківська у 2013 році — 39,0 і 41,0 ц/га відповідно в Інституті сільського господарства Криму. Із вивченого генофонду колекційного розсадника в середньому за 4 посушливі роки (2009, 2012, 2013 і 2014) вирізнялись 12 сортів, які перевищили урожайність посухостійкого стандарту Аркадія одеська (табл. 4). Кращими виявились Медея (Україна), Nordic (Польща) та лінія із французького сорту Kalmit.

Таблиця 4

Урожайність найбільш посухостійких сортозразків сої колекційного розсадника, г/м², по роках

Сортозразок	Походження	2009	2012	2013	2014	Середнє
Аркадія одеська,ст.	Україна, СГП	71,1	22,2	57,5	14,1	41,2
Poland Yellow	США	112,6	25,2	121,5	23,7	70,7
Булдури	Литва	77,0	16,3	74,1	22,2	47,9
Nordic	Польща	133,3	123,0	88,9	8,9	88,5
Olivkova prebedovska	Чехія	100,7	22,2	35,6	23,7	45,6
Hana	– // –	109,6	8,9	44,4	23,7	46,7
HM 648 (Rita)	– // –	17,8	80,0	91,9	16,3	51,5
Montreal	Німеччина	17,8	26,7	103,7	25,2	43,3
Лінія із сорту Kalmit (сірокоричневий рубчик насіння)	Франція	91,9	71,1	148,1	23,7	83,7
Медея	Україна	222,2	38,5	134,8	25,2	105,2
Валюта	– // –	74,1	54,8	47,4	35,6	53,0
Київська 98	– // –	59,3	32,6	54,8	19,3	41,5
ВІР 5048	Казахстан	50,4	88,9	62,2	14,8	54,1

За результатами 2013–2014 років найвищу продуктивність показали українські сорти КС-9 (101,5 г/м²), Аметист (94,8 г/м²), Спринт (85,2 г/м²), Либідь (83,7 г/м²), Естафета (81,5 г/м²), Медея (80,0 г/м²), канадська лінія 70–74 (83,7 г/м²) та лінія із сорту Kalmit (85,9 г/м²). Ці форми рекомендуємо для використання в селекційних програмах при створенні стійких до підвищених температур та нестачі вологи сортів.

Для створення сортів з підвищеним рівнем білка необхідні джерела та донори цієї ознаки. Бажано, щоб вони були різного генетичного та географічного походження. Шляхом їх схрещування між собою або з високопродуктивними генотипами можливо одержати трансгресивні за цією ознакою нові селекційні лінії. У своїх дослідженнях добору форм такого типу ми приділяємо особливу увагу, тому щорічно вивчаємо господарсько цінні ознаки великого набору вітчизняних та іноземних сортів з метою залучення кращих до гібридизації.

Чотирирічні дані за вмістом білка в насінні сортів екологічного випробування наведені в таблиці 5. Видно, що найбільший вміст його виявили у сортів Одеська 150 (42,4 %) і Анатоліївка (42,2 % в середньому за 4 роки). На основі одержаних даних можна рекомендувати ці сорти, а також Київську 98, Мельпомену, Оксану, Русу та Фенікс для одержання концентратів та ізолятів. Із їхнього насіння можливо виділити найбільшу кількість харчового білка.

Таблиця 5

Вміст білка у кращих високобілкових сортів сої в екологічному випробуванні, %, по роках

Сорт	2010	2011	2012	2013	Середнє		
					за 2010–2011 роки	за 2012–2013 роки	різниця
Васильківська, ст.	39,4	40,4	40,8	39,9	39,9	40,3	0,4
Ятрань, ст.	37,5	38,7	41,3	41,0	38,1	41,1	3,0
Одеська 150	40,5	42,3	43,3	43,6	41,4	43,4	2,0
Анатоліївка	40,6	41,1	43,7	43,4	40,8	43,5	2,7
Київська 98	40,6	41,3	41,9	41,0	40,9	41,4	0,5
Мельпомена	40,2	39,7	43,5	42,2	39,9	42,8	2,9
Руса	40,4	38,0	43,0	40,6	39,2	41,8	2,6
Оксана	38,8	38,7	43,8	42,5	38,7	43,1	4,4
Равніца	38,3	39,9	42,8	40,3	39,1	41,5	2,4
Єлена	40,4	39,1	41,5	38,6	39,7	40,0	0,3
Фенікс	40,4	37,4	42,2	42,5	38,9	42,3	3,4
Аркадія одеська	39,4	38,5	39,9	41,6	38,9	40,7	1,8
Фаєтон	38,5	38,7	42,9	38,2	38,6	40,5	1,9

Відомо, що у роки з більш високою температурою повітря протягом періоду вегетації вміст білка у насінні сої підвищується. Ця закономірність підтвердилась і у нашому дослідженні. З таблиці 5 видно, що вміст білка у дуже посушливих 2012–2013 роках був вищим, ніж у 2010–2011 роках з більш сприятливими погодними умовами. У таких сортів, як Єлена, Київська 98 та Васильківська підвищення білковості було незначним (менше 1 %). Це пояснюється тим, що вони належать до скоростиглої групи і встигли сформувати більшість насіння до настання посухи у липні. В той же час сорти з тривалішим вегетаційним періодом відчутно відреагували на посушливі умови збільшенням вмісту білка від 2,0 % (Одеська 150) до 4,4 % (Оксана).

Досить важливо, що насіння сої багате не лише білком, але й олією, яка характеризується високою харчовою цінністю. Вміст жиру в насінні сортів екологічного випробування наведений у таблиці 6. Виділились за цим показником сорти Золотиста (23,5 %), Ворскла (23,4 %), Юг 30 (22,8 %). Важливо зауважити, що, як правило, підвищеним вмістом олії

характеризуються скоростиглі сорти, а високою білковістю ті, що мають більш подовжений вегетаційний період.

Порівняння олійності насіння показало, що у сортів скоростиглої групи у більш посушливі роки вміст жиру або залишався незмінним (Стратегія), або підвищувався на 0,2–1,8 %. У сортів з тривалішим періодом вегетації олійність, навпаки, знижувалась на 0,1–1,9 % (табл. 6).

Таблиця 6

Вміст олії у кращих високоолійних сортів сої в екологічному випробуванні, %, по роках

Сорт	2010	2011	2012	2013	Середнє		
					за 2010–2011 роки	за 2012–2013 роки	різниця
Васильківська, ст.	21,6	20,8	20,7	22,1	21,2	21,4	0,2
Ятрань, ст.	23,0	20,1	20,2	19,5	21,5	19,8	–1,7
Золотиста	25,0	23,0	22,8	23,0	24,0	22,9	–1,1
Ворскла	23,9	22,4	23,2	24,1	23,1	23,6	0,5
Стратегія	23,6	20,7	22,2	22,1	22,1	22,1	0,0
Юг 30	22,0	22,5	21,9	24,7	22,2	23,3	1,1
Агат	23,1	21,7	21,4	21,7	22,4	21,5	–0,9
Вінничанка	23,0	21,8	21,6	21,6	22,4	21,6	–0,8
Діона	21,5	21,5	23,1	23,6	21,5	23,3	1,8
Устя	22,0	21,6	22,3	22,2	21,8	22,2	0,4
Данко	23,9	21,1	20,6	20,7	22,5	20,6	–1,9
Аполлон	21,7	21,6	22,2	20,8	21,6	21,5	–0,1

Оскільки процес переробки сої на кормові добавки, харчові концентрати та ізоляти включає видалення олії, то для такої технології бажано мати сорти, які поєднують високі показники як білковості, так і олійності. Як показує вітчизняна та зарубіжна селекційна практика, створити сорт з максимальними значеннями обох показників поки що неможливо. Тому важливо поєднувати їх в одному генотипі на такому рівні, щоб вони не впливали негативно на урожайність насіння. Серед вивчених сортів, а вони практично всі занесені до Державного реєстру сортів України або проходять державне випробування, за цим напрямом використання можливо виділити такі, як Васильківська (вміст білка 39,8 %, жиру — 21,2 %), Валентія (39,7 і 21,0 %), Ізмурдна (39,0 і 21,4 %), Горлиця (39,5 і 22,0 %), Даная (39,1 і 21,5 %), Святогор (39,3 і 21,3 %). Переробка їх насіння існуючими на сьогодні технологіями дасть найкращий економічний ефект.

Крім великої кількості білка та олії, насіння сої містить ряд антипоживних речовин, серед яких найбільше значення мають інгібітори протеаз, лектини, ліпоксигеназа, олігоцукри. При використанні сирої сої в їжу або корм вони викликають різного роду розлади травлення та захворювання. Ці антипоживні речовини майже повністю руйнуються за теплової обробки насіння.

Суттєвий вплив на харчові якості насіння сої має група ліпоксигеназ, які зумовлюють специфічні присмак і запах. Їхня біологічна роль полягає в окисленні ненасичених жирних кислот, особливо лінолевої та ліноленової, яких багато містить насіння сої. Крім того, вони інактивують –SH групи білків, що знижує їхню емульгуючу здатність. У Кореї та Японії уже виведені сорти харчового типу, у яких повністю відсутні всі форми ліпоксигенази.

Вміст сумарних інгібіторів трипсину в насінні сортів сої екологічного випробування варіював під час випробування залежно від року і сорту від 21,8 мг/г у Ювілейної у 2010 році до 59,3 мг/г у Берегині у 2011 році. Розмах значень середньої активності інгібіторів трипсину за 2010–2013 роки знаходився в межах 28,2 мг/г (Ювілейна) — 45,4 мг/г (Київська 98). Видно, що існує суттєва генетична мінливість цієї ознаки, але сортів, у яких вона була б дуже низькою, не виявили. До низькоінгібіторних можна віднести лише сорт Ювілейна (табл. 7), у якого мінімальний вміст цієї сполуки чітко виділявся протягом усіх років дослідження. Варто також зауважити суттєву екологічну компоненту мінливості цієї ознаки.

Таблиця 7

Вміст інгібіторів трипсину в насінні сортів сої екологічного випробування, мг/г, по роках

Сорт	2010	2011	2012	2013	Середнє
Васильківська, ст.	23,7	36,2	39,6	34,3	33,5
Ятрань, ст.	26,9	46,0	28,7	31,8	33,4
Ювілейна	19,4	32,0	30,0	28,9	27,6
Антарес	17,8	39,3	31,7	36,1	31,2
Протеїнка	22,8	45,6	28,5	33,8	32,7
Донька	27,6	42,3	28,6	38,1	34,2
Знахідка	20,0	46,8	29,7	34,1	32,7
Аріадна	–	–	28,4	34,7	–

Приблизно така ж ситуація і з умістом ліпоксигенази. Кількість цього компоненту насіння складала 0,09 (Донька, 2010 р.) — 1,10 (Берегиня, 2013 р.) одиниць активності. Середній вміст ліпоксигенази коливався від 0,23 (Устя) до 0,56 (Подольська, Вінничанка) одиниць активності. Досить чітко низькою ліпоксигеназною активністю вирізнялись сорти Устя, Київська 98, Валентія, Ельдорадо, Аметист, Юг 40 (табл. 8). Одержана з насіння цих сортів олія може зберігатись більш тривалий час.

Незважаючи на досить складні погодні умови в зоні досліджень, ми щорічно виділяємо значний набір селекційних ліній, які характеризуються високим рівнем посухостійкості. При випробуванні за оптимальних умов зволоження вони, як правило, дають високі врожаї насіння.

Головною умовою цього етапу нашої селекційної роботи є поєднання підвищених адаптивності, урожайності та вмісту білка (табл. 9). У цьому сенсі досить цінною виявилась комбінація Медея / ВІР 5048, із якої

Таблиця 8

Активність ліпоксигенази в насінні сортів сої екологічного випробування,
одиниць акт., по роках

Сорт	2010	2011	2012	2013	Середнє
Васильківська, стандарт	0,14	0,36	0,14	0,64	0,32
Ятрань, стандарт	0,10	0,45	0,46	0,85	0,47
Устя	0,16	0,18	0,18	0,39	0,23
Л-2 (Орел)	0,11	0,16	0,18	0,49	0,24
Ельдорадо	0,13	0,21	0,23	0,37	0,24
Аметист	0,16	0,26	0,23	0,35	0,25
Валентія	0,10	0,35	0,22	0,37	0,26
Романтика	0,11	0,40	0,18	0,37	0,26
Київська 98	0,18	0,43	0,17	0,32	0,28
Юг 30	0,11	0,35	0,18	0,52	0,29
Седміца	0,08	0,20	0,39	0,55	0,31
Медея	0,16	0,33	0,17	0,64	0,33
Юг 40	–	0,19	0,13	0,26	–

Таблиця 9

Кращі за біохімічним складом насіння лінії сої селекційного розсадника,
2011–2013 рр.

№ лінії, 2013 р.	Сорт, лінія	Уро- жай, г/м ²	Вміст, % (2013)		Маса 1000 на- сінин, г	b _i
			білка	олії		
	Аркадія одеська, стандарт	63,8	42,5	18,7	132	1,01
	Ятрань, стандарт	74,6	41,1	17,5	140	2,37
25983	Л-2 (Орел) / Київська 98	43,6	43,9	19,1	116	0,46
25987	Медея / ВІР 5048	66,4	44,3	17,9	188	0,48
25989	Медея / ВІР 5048	82,5	43,7	19,5	205	1,16
25993	Медея / ВІР 5048	119,0	43,7	19,6	188	2,73
25994	Медея / ВІР 5048	100,0	46,3	19,4	183	2,38
25998	Медея / ВІР 5048	87,6	43,1	19,3	192	1,29
26006	Хей-нун / (К-12 / Чорнобура)	50,4	43,3	18,4	140	–

виділили ряд ліній з дуже високим вмістом білка. Сорт Медея є досить поширеним у виробництві, а колекційна лінія ВІР 5048 протягом ряду років виділяється дуже високим рівнем білка, доброю насінневою продуктивністю, відноситься до ранньостиглої групи. Отже, для одержання ліній сої з більш високим рівнем білка в насінні до гібридизації бажано залучати хоча б одну високобілкову форму.

Висновки. Отже, протягом ряду посушливих років була проведена оцінка значного набору сортів сої за урожайністю і біохімічними показниками насіння.

Найбільш продуктивними сортами виявились Ворскла, Агат, Спринт, Аметист, Протеїнка із скоростиглої групи та Ювілейна, Знахідка, Альта-ір, Феміда, Валюта, Берегиня — із ранньостиглої. Найменше знижували

урожайність за посушливих умов сорти Селекта, Аметист, Діона, Медея, Сяйво, Ювілейна та Валюта.

Сорти Одеська 150, Київська 98, Берегиня, Анатоліївка, Оксана, Мельпомена виділяються цінним комплексом господарсько цінних ознак і високим рівнем білка в насінні. За умов посухи білковість насіння більше зростала у сортів з тривалішим періодом вегетації.

Сорти Васильківська, Валентія, Ізмурудна, Горлиця, Даная, Святогор поєднують у насінні підвищену кількість білка та жиру, що дає хороший економічний ефект при його переробці.

Виявлена суттєва генетична мінливість серед сортів сої за активністю інгібіторів трипсину та ліпоксигенази. Також виявлені сорти з пониженою активністю цих антипоживних компонентів, але форм, у яких ці сполуки були б відсутні, не спостерігали.

Шляхом гібридизації створений новий вихідний матеріал сої, який поєднує комплекс господарсько цінних ознак і високий рівень білка в насінні. У кращих ліній конкурсного випробування білковість насіння перевищує 43 %.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Технические культуры. Соя. — М.: Агропромиздат, 1986. — С. 97–109.
2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
3. Чирков Ю. И. Агрометеорология. — Л.: Гидрометеоиздат, 1986. — 296 с.

Надійшла 18.11.2014

UDC 631.527:633.34

Sichkar V. I., Lavrova G. D., Ganzhelo O. I., Molodchenkova O. O., Adamovska V. G. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

BREEDING EFFICIENCY FOR DROUGHT RESISTANCE AND SEED QUALITY IMPROVEMENT IN SOYBEAN

During several years a wide range of soybean cultivars was estimated for yield and biochemical traits of seed quality. The cultivars with valuable complex of agronomical traits were determined under drought conditions. New tolerant to the lack of water and high temperature lines of soybean with high yield and protein content have been developed.

УДК 631.527:633.34

**Сичкарь В. И., Лаврова Г. Д., Ганжело О. И., Молодченкова О. О.,
Адамовская В. Г.**

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ СЕЛЕКЦИИ СОИ НА ПОВЫШЕНИЕ
ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ И УЛУЧШЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ
СВОЙСТВ СЕМЯН**

В течение ряда засушливых лет была проведена оценка большого количества сортов сои по урожайности и биохимическим показателям качества семян. Выделены сорта, обладающие комплексом хозяйственно ценных признаков в условиях дефицита влаги и повышенных температур воздуха. Путём гибридизации созданы новые линии сои, обладающие высокой продуктивностью в засушливых условиях и высоким содержанием белка в семенах.

УДК 631.524:631.6.02:089

В. Ю. СЕЧНЯК, к. с.-г. н., пров. наук. співроб.,
О. М. ХОХЛОВ, к. с.-г. наук, зав. лаб.,
СГІ–НЦНС, Одеса
e-mail: gen.resursi@ukr.net

ХАРАКТЕРИСТИКА ІНТРОДУКОВАНИХ СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ ПОСЛІДОВНИМ РОЗКРИТТЯМ ІНФОРМАЦІЇ

Розробка технологій оцінки інтродукованих колекцій потребує особливої ретельності. Застосування запропонованої схеми аналізу дозволило виділити перспективні для селекції зразки пшениці м'якої озимої та дослідити закономірності мінливості комбінування окремих ознак. Викладена схема може стати основою типових алгоритмів і технологій аналізу результатів сортовипробувань колекцій та селекційного матеріалу.

Ключові слова: пшениця, інформація, інтродукція, селекція, аналіз, алгоритм, сортовипробування.

Вступ. Для України мобілізація світового генетичного різноманіття рослин набуває особливого значення у зв'язку з реформуванням аграрного сектора. Сільське господарство, яке функціонує на базі ринкових відносин, потребує нових сортів, здатних стабільно і якомога повніше та швидше окупити вкладені кошти як за обсягом, так і за якістю урожаю. Створення на генетичній основі колекційних зразків сортотипів різного призначення, адаптованих та генетично захищених від несприятливих біотичних та абіотичних чинників середовища, розширює сортимент, поліпшує якість продукції та знижує рівень застосування хімічних засобів захисту рослин [1]. Повний цикл кожного сортовипробування передбачає реєстрацію великої кількості різнопланових характеристик і тому в результаті генерує величезний масив даних складної структури. Особливою складністю у цьому плані відрізняються результати досліджень інтродукованого матеріалу. Якщо селекційним зразкам, створеним однією установою, притаманна певна «уніфікація» через схожість умов виведення сорту та критеріїв оцінки, то інтродуковані зразки додатково несуть «сліди» регіональної специфіки. Тому розробка технологій оцінки інтродукованих колекцій потребує особливої ретельності [2].

Мета роботи: дослідити на реальних даних різні аспекти створення та відпрацювання ефективних технологій, а також регіональні відмінності матеріалу.

Матеріал і методи. У поточному році досліджували матеріал із екологічного випробовування 93 зразків різного географічного походження,

які вирощували у польових умовах 1-рядковими ділянками довжиною 2,5 м. Після збирання визначали ознаки зерна: урожай (г з ділянки), виповненість (1–9 балів), крупність (маса 1000 шт.) та якість за показником седиментації, а також дату колосіння (травень), висоту рослин та стійкість до борошнистої роси (1–9 балів).

Окремі показники перед аналізом трансформували до стандартного виду. Так, виповненість зерна оцінювали за «старою» 5-бальною шкалою з наступним переведенням у 9-бальну за рівнянням прямолінійної регресії. З метою максимального збереження інформації остаточний результат подано з точністю до десятих. Отримані оцінки ураження борошнистою росою були трансформовані з традиційної процентної шкали до 9-бальної за рівнянням кривої, відповідно до рекомендацій [3]. Слід зазначити, що в результаті такої трансформації мінливість набуває неадитивного характеру, що може негативно позначитися на коректності статистичної оцінки [4].

Основні види статистичної обробки (визначення середніх, варіації, меж коливань, кореляції, дисперсійний аналіз) виконували у програмах:

Пакет *AGROBASE 99* компанії *Agronomix Software, Inc.*, Canada, www.agronomix.mb.ca. (багатофакторний дисперсійний аналіз результатів польових експериментів). Ліцензія: AGX-98–118.

Пакет інструментів аналізу даних у програмі *EXCEL* із *Microsoft Office 2010, ver. 14.0.7128.5000*, Microsoft Corporation, USA, www.microsoft.com. (загальна статистика). № продукту: 01631–551–4295762–27539.

Аналіз головних компонент (PCA), кластерний аналіз та частину аналізу регресій виконували у програмі *SimFit, ver. 7.0.5 Academic 32-bit*, автор: W. G. Bardsley, University of Manchester, UK, www.simfit.org.uk. Ліцензія: не потрібна. При цьому для вирівнювання пріоритетів ознак із дуже різними шкалами дані попередньо переводили у 9-бальну шкалу за емпіричними регресіями.

Результати досліджень. Загальні результати наведені у таблиці 1. За всіма ознаками спостерігалася значна мінливість з коефіцієнтами варіації від 8,6 (маса 1000 зерен) до 29,9 % (урожай).

З метою дослідити регіональні відмінності матеріал розгрупували за країнами походження. У випадках низької чисельності груп їх об'єднували за географічним підходом. Результати наведені у таблиці 2. Для зручності порівнянь дані усіх ознак перед аналізом перевели до величин одного порядку, а саме — до 9-бальної шкали. Найвищий урожай зерна з ділянки показали сорти України та Австрії, найнижчий — Франції, Німеччини та США. Найдрібнішим (проте і найкраще виповненим) було зерно сортів США, показники решти регіонів не відрізнялися статистично при тенденції гіршої виповненості у сортів Франції та Німеччини. За показником седиментації у кращий бік відносилися сорти України [5], Австрії та групи країн Близького Сходу, нижчим цей показник був у сортів Франції, Німеччини та США. Найбільш ранньою дата колосіння була у сортів США та України, а найбільш пізньою — у сортів Франції та Німеччини. Ця ж група

Таблиця 1
Результати дослідження зразків пшениці з екологічного випробування, Дачна, Одеська обл., травень 2014 р.

№ пп	Cat_ID	Зразок	Країна	Уро- жай, г	М 1000 шт., г	Виповн., бал	Седим., мл	Дата коло- сіння	Висо- та, см	Борош. роса, бал
1	IR15610W	3093528/Culver	USA	200	37,7	6,6	80	11	100	5,7
2	IR 15656W	TX98D3447/TX99D4657	USA	200	33,0	7,6	42	9	80	5,7
3	IR 15660W	AWD99*5725/TX98D1170	USA	200	35,1	7,6	40	6	90	6,9
4	IR 15621W	MASON/JAGGER	USA	200	36,8	7,1	61	8	90	5,7
5	IR 15669W	ДБАЙЛИВА	UKR	320	41,6	6,6	81	10	80	6,9
6	IR 15670W	ЗАПАШНА	UKR	250	39,8	7,1	80	10	80	5,7
7	IR 15671W	КАРМА	UKR	200	40,8	7,1	85	9	85	6,9
8	IR 15672W	ФЕРМЕРКА	UKR	250	44,9	6,6	88	11	85	6,3
9	IR 15720W	831/10	UKR	200	39,6	6,6	73	10	100	6,9
10	IR 15255W	СТАТНА; СЛАВНА	UKR	230	41,5	7,1	87	10	80	6,9
11	IR 15709W	L12KH	UKR	220	36,1	6,6	47	9	80	6,9
12	IR 15674W	БОРІЯ	UKR	350	43,5	7,6	48	12	80	5,7
13	IR 15676W	ГІЛЕЯ	UKR	300	40,1	7,1	82	10	95	5,7
14	IR 15678W	СТОКОЛОСА	UKR	300	40,8	6,6	62	13	90	7,6
15	IR15679W	СЯЙВО	UKR	400	47,7	6,6	70	9	95	5,7
16	IR 15680W	БУГ	UKR	320	43,4	6,6	84	10	75	5,7
17		K89411275/БАЛКІВСЬКА	UKR	300	41,5	7,1	75	5	95	5,2
18		K898H\Л/151–6/ДОСКОНАЛА (127–07)	UKR	320	42,7	6,6	62	11	90	5,7
19		K898H\Л/151–6/ДОСКОНАЛА (127–07)	UKR	350	41,7	6,6	60	11	95	5,7
20		K898H\Л/151–6/ДОСКОНАЛА (127–07)	UKR	420	39,2	7,1	62	11	100	6,9
21		TX98O1170/ДОСКОНАЛА (127–07)	UKR	300	42,1	6,6	69	7	95	5,7

Продовження табл. 1

№ пп	Cat_ID	Зразок	Країна	Уро- жай, г	М 1000 шт., г	Виповн., бал	Седим., мл	Дата коло- сіння	Висо- та, см	Борош. роса, бал
22		TX9801170/ДОСКОНАЛА (127–07)	UKR	250	43,0	7,6	71	8	90	5,7
23		TX9801170/ДОСКОНАЛА (127–07)	UKR	520	43,2	6,6	66	7	95	5,2
24		st АЛЬБАТРОС ОД.	UKR	320	39,7	6,6	92	8	90	5,7
25		st БУНЧУК	UKR	420	35,8	6,6	93	9	85	5,7
26		st ВІКТОРІЯ	UKR	200	38,1	7,1	86	9	85	5,7
27		st КУЯЛЬНИК	UKR	300	39,6	7,6	80	9	90	5,7
28		CO99\П/254/ПОЛЬОВИК (360–08)	UKR	420	43,6	5,9	73	11	90	5,2
29		CO99\П/254/ПОЛЬОВИК (360–08)	UKR	250	38,9	6,6	66	4	75	5,7
30		И21/ДЮК (233–08)	UKR	300	42,7	7,1	54	6	90	6,3
31		И21/ДЮК (233–08)	UKR	400	39,4	7,6	55	4	95	5,7
32		L127/IL46–0KH–3KH (427–08)	UKR	220	41,1	7,6	91	8	95	5,7
33		AC MASKINNON/L35–30LU (192–08)	UKR	300	40,8	6,6	33	9	95	6,9
34	IR15104W	ЛЮТЕСЦЕНС 38	UKR	320	42,0	7,6	59	13	90	5,7
35	IR15102W	ЕРИТРОСПЕРМУМ 316	UKR	350	41,5	6,6	90	12	95	6,9
36		ФОНТАНКА 29	UKR	250	35,6	5,9	70	10	75	5,7
37	IR 15666W	UN-49	TUR	250	42,2	6,6	55	10	90	6,3
38		SHT44//K4500.2/SAPSUCKER/ALT	TUR	320	45,3	6,6	78	10	100	5,7
39		YUNA/DAGDAS94//SHAPK-1	TUR	280	44,8	7,1	64	7	115	5,7
40		CM98–112/4/HAWK/81PY9641 //...	TUR	220	44,1	6,6	78	10	100	5,7
41		\W95–091 (=KS85–663–8–9//WI81–133..	TUR	300	38,5	6,6	90	8	95	5,2
42		KS96HW94/CO980352	TUR	300	40,5	7,6	69	9	95	5,2
43		S01–249–3*R	TUR	300	34,6	7,6	88	10	110	5,2
44		Azd//Tob/Chb/3/Em>s»/Tjb84/4/ Blou/	TUR	300	41,7	6,6	55	7	105	4,7

45		KS94U275/1878//JAGGER	TUR	320	37,6	6,6	65	4	95	5,7
46		CO970547/Prowers 99	TUR	200	33,4	7,1	88	8	95	5,7
47	IR 15365W	IGNIS	SVK	350	44,4	7,1	48	13	100	6,3
48	IR 15090W	ЛЕБЕДЬ	RUS	350	38,4	7,1	69	10	95	6,9
49	IR 15091W	МАРКИЗА	RUS	260	43,1	6,6	82	8	95	6,3
50	IR15100W	КАЛАЧ 60	RUS	220	45,6	5,9	55	11	105	6,3
51	IR 15098W	ДОНЭКО	RUS	250	47,0	5,3	54	11	100	6,9
52	IR 15575W	LOIAL	ROU	200	37,7	7,6	80	12	80	6,3
53	IR 15577W	LIMAN	ROU	250	44,3	7,6	76	12	75	6,3
54	IR 15583W	LITERA	ROU	300	41,8	7,1	82	8	85	7,6
55	IR 15567W	DUMBRAVITA/ALBATROS	MOL	250	42,4	7,6	77	10	85	6,9
56	IR 15569W	SPELTA/OD,-267//PORADA	MOL	450	43,4	7,1	84	12	95	5,7
57	IR 15435W	АЛЯ	KAZ	200	45,1	7,1	68	13	85	5,7
58	IR 15458W	W68	KAZ	350	48,6	7,6	70	11	100	5,7
59	IR 15742W	MV17/Zrn	IRN	300	37,4	7,1	52	9	90	6,9
60	IR 15572W	MV LUCIA	HUN	400	44,1	7,1	82	13	80	5,7
61	IR 15559W	MV LAURA	HUN	350	37,1	6,6	67	6	85	6,9
62	IR15714W	MUKHRAN	GEO	320	44,6	7,6	44	12	100	5,7
63	IR.15590W	MV16–85/Sturdy//Prysya	BGR	330	42,4	7,1	35	14	110	5,7
64	IR 15601W	BALATON	AUT	250	41,8	7,1	51	5	90	6,3
65		MV KOKARDA	HUN	350	38,5	6,6	35	5	80	6,3
66		MV NADOR	HUN	320	46,6	6,6	46	9	75	6,3
67		PENGO	NA	420	42,6	6,6	65	7	85	5,7
68		MV PANTLIKA	HUN	450	47,2	6,6	77	13	75	6,3
69		TV 81(5)F ₇ Taestivum Xap.26	NA	150	37,3	4,8	50	15	95	7,6
70		СТАЛЕБА	UKR	230	51,7	7,1	56	7	85	5,7
71		КРОК	UKR	330	41,5	7,6	77	9	85	5,7
72		МАГІСТРАЛЬ	UKR	300	46,9	7,1	64	7	110	7,6
73	IR 12818W	ЛЮТЕСЦЕНС 26247	DEU	250	43,5	6,6	57	15	100	6,9
74	IR 05857W	108–80	BGR	220	44,9	6,6	68	11	110	5,7

Закінчення табл. 1

№ пп	Cat_ID	Зразок	Країна	Уро- жай, г	М 1000 шт., г	Виповн., бал	Седим., мл	Дата коло- сіння	Висо- та, см	Борош. роса, бал
75	IR 02557W	KAPMPAAK 8	ARM	320	38,2	6,6	55	15	115	5,7
76	IR 05856W	98–80	BGR	180	35,8	6,6	50	10	85	5,7
77	IR 13024W	ASTRON	SYR	350	40,4	5,9	69	15	90	5,7
78	IR 05644W	ROAZON	FRA	60	42,8	5,9	33	14	75	7,6
79	IR 12370W	RENAN	AUT	100	41,7	5,9	67	15	65	6,3
80	IR 14795W	AKRATOS	DEU	320	38,5	6,6	56	15	85	6,9
81	IR 14807W	EMERINO	AUT	350	40,2	7,1	86	15	95	6,3
82	IR 15073W	EUCLIDE	FRA	80	45,1	6,6	55	14	70	6,9
83	IR 14808W	EUROFIT	AUT	540	38,7	6,6	84	14	90	5,7
84	IR 14423W	ILIAS	FRA	250	35,2	4,8	76	16	85	6,3
85	IR 13831W	KOBIERA	POL	250	36,4	4,8	47	16	85	6,9
86	IR 14450W	CUBUS	DEU	260	35,6	4,8	76	18	70	6,9
87	IR 14517W	LUPUS	AUT	420	41,6	5,3	91	8	110	7,6
88	IR 14515W	NS 124–01	AZE	350	42,0	5,9	94	13	115	5,7
89	IR 13909W	NELA	CZE	200	41,3	6,6	50	12	80	7,6
90		st АЛЬБАТРОС од.	UKR	500	38,2	7,1	92	11	85	5,7
91		st БУНЧУК	UKR	200	39,2	6,6	89	10	90	6,3
92		st ВІКТОРІЯ од.	UKR	320	40,8	7,1	80	12	75	6,9
93		st КУЯЛЬНИК	UKR	300	41,7	7,1	85	10	85	6,3
		n		93	93	93	93	93	93	93
		Срд.		292,4	41,1	6,8	68,3	10,2	90,3	6,2
		Ст.відх.		87,38	3,55	0,68	15,96	2,98	10,65	0,67
		V, %		29,9	8,6	10,0	23,4	29,1	11,8	10,9
		min		60	33	4,8	33	4	65	4,7
		max		540	51,7	7,6	94	18	115	7,6

вирізнялася короткостеблістю; найбільш високорослі у середньому були зразки Близького Сходу та Росії. За стійкістю до борошністої роси кращими виявилися сорти Франції та Німеччини, а найслабкішими у цьому сенсі — сорти із Близького Сходу. Загалом міжрегіональні відмінності виявлені не надто сильно, різниця між середніми за кожною із ознак не перевершувала 2 балів.

Таблиця 2

Регіональні відмінності за дослідженими ознаками

Регіон	n	Урожай, г	М 1000, шт., г	Виповне- ність зерна, бал	Седи- мента- ція, мл	Дата колосі- ння	Висота, см	Борошн. роса, бал
UKR	39	4,4±0,15	5,3±0,10	6,9±0,08	6,3±0,23	3,3±0,10	4,1±0,10	6,1±0,10
RUS	4	3,9±0,33	5,7±0,38	6,2±0,39	5,5±0,66	3,5±0,20	4,9±0,19	6,6±0,18
FRA, DEU	6	3,2±0,51	5,0±0,35	5,9±0,36	4,9±0,65	5,0±0,17	3,5±0,38	6,9±0,17
AUT	5	4,7±0,88	5,2±0,12	6,4±0,35	6,6±0,74	3,9±0,57	4,2±0,58	6,4±0,31
POL, MOL, ROU, HUN, CZE, BGR	17	4,3±0,27	5,3±0,18	6,7±0,20	5,3±0,41	3,7±0,21	3,9±0,21	6,4±0,17
TUR, SYR, IRN, AZE, ARM, KAZ	16	4,2±0,15	5,2±0,21	6,8±0,14	6,1±0,34	3,5±0,21	5,0±0,19	5,7±0,12
USA	4	3,1±0,00	4,1±0,21	7,2±0,26	4,6±0,94	3,1±0,29	4,2±0,33	6,0±0,30

У таблиці 3 наведені порядкові номери (табл. 1) окремих сортів із бажаними характеристиками. Абсолютні величини ознак для цих сортів виділені у таблиці 1 жирним шрифтом. Загалом із 93 проаналізованих зразків 51 є носіями хоча б однієї бажаної характеристики. Сорт MV PANTLIKA з Угорщини комбінує їх одразу 3: врожайність, масу 1000 зерен та короткостеблість. 11 сортів (№№ 29, 31, 32, 53, 58, 66, 72, 78, 82, 87 та 90) несуть по дві бажані ознаки і 39 сортів виділилися за однією ознакою.

Таблиця 3

Перелік (номери за таблицею 1) сортів із кращими характеристиками

Ознака	Порядкові номери сортів
Урожай	23, 56, 68, 83, 90
Маса 1000 зерен	15, 38, 50, 51, 57, 58, 66, 68, 70, 72, 82
Виповненість зерна	2, 3, 12, 22, 27, 31, 32, 34, 42, 43, 52, 53, 55, 58, 62 71
Седиментація	24, 25, 32, 35, 41, 87, 88, 90
Раннє колосіння	17, 29, 31, 45, 64, 65
Короткостеблість	16, 29, 31, 45, 64, 65
Стійкість до борошн. роси	14, 54, 69, 72, 78, 87, 89

Корелятивним аналізом були досліджені залежності між окремими ознаками. Достовірними приймали такі коефіцієнти, які перевершували критичне значення r (0,20 для $p=0,05$). При цьому знайдена обернена за-

лежність (-0,39) виповненості зерна із датою колосіння, що зумовлено «запалом» у пізніх сортів в умовах Півдня України [6]. Позитивну залежність показника седиментації із урожаєм (+0,23) пояснити важко без наявності даних із вмісту білка.

Стійкість до борошнистої роси негативно корелювала із виповненістю зерна (-0,29) та врожаєм (-0,28), що, на перший погляд, є парадоксальним результатом. Проте позитивна кореляція з датою колосіння (+0,23) вказує на те, що серед стійких до борошнистої роси сортів переважали пізньостиглі європейські, неадаптовані до посушливих умов південного Степу.

Таблиця 4

Параметри головних компонент

Компонента	Власні значення	Частка від загальної варіації	Кумулятивна сума
1	1,890	0,270	0,270
2	1,197	0,171	0,441
3	1,124	0,161	0,601
4	0,887	0,127	0,728
5	0,678	0,097	0,825
6	0,675	0,096	0,921
7	0,550	0,079	1,000

Дані, наведені в таблиці 1, за своєю математичною сутністю є координатами багатомірного простору, для узагальненого аналізу яких слід залучати процедури багатовимірної статистики. З них одними з найбільш популярних є метод головних компонент (PCA — principal components analysis) та кластерний аналіз. Типово метод PCA застосовують для зведення великого числа змінних до 2–3 (редукція розмірності даних), що має спростувати подальшу класифікацію об'єктів аналізу (зразків). У таблиці 4 наведені характеристики семи головних компонент, які разом описують усю наявну мінливість. Дані свідчать про велику «розпорошеність» загальної варіації. На перший компонент припадає лише близько чверті усієї варіації (27 %); для опису ж 80 % варіації число необхідних компонент складає 5. Тому головна умова доцільності застосування PCA — редукція розмірності даних — у даному випадку не виконується. Замість семи параметрів, кожен з яких має чіткий селекційний зміст, ми отримуємо знову-таки сім «комплексних» змінних, змісту яких важко надати практично значиму інтерпретацію. На рисунку 1 показана діаграма розсіювання даних двох перших компонент PC-1 та PC-2. Сорти №№ 2, 3, 69, 78, 84, 85, 86 та 88, які або виходять за межі 95 %-ного 2-мірного розсіювання, або ж дуже близькі до цих меж, об'єднує те, що усі вони іншорайонного походження і тому в середньому дещо поступаються українським за врожаєм, виповненістю зерна, показником седиментації, є більш пізніми, трохи стійкішими до борошнистої роси. Слід зазначити, що висловлені вище сумніви в цілому не заперечують саму доцільність

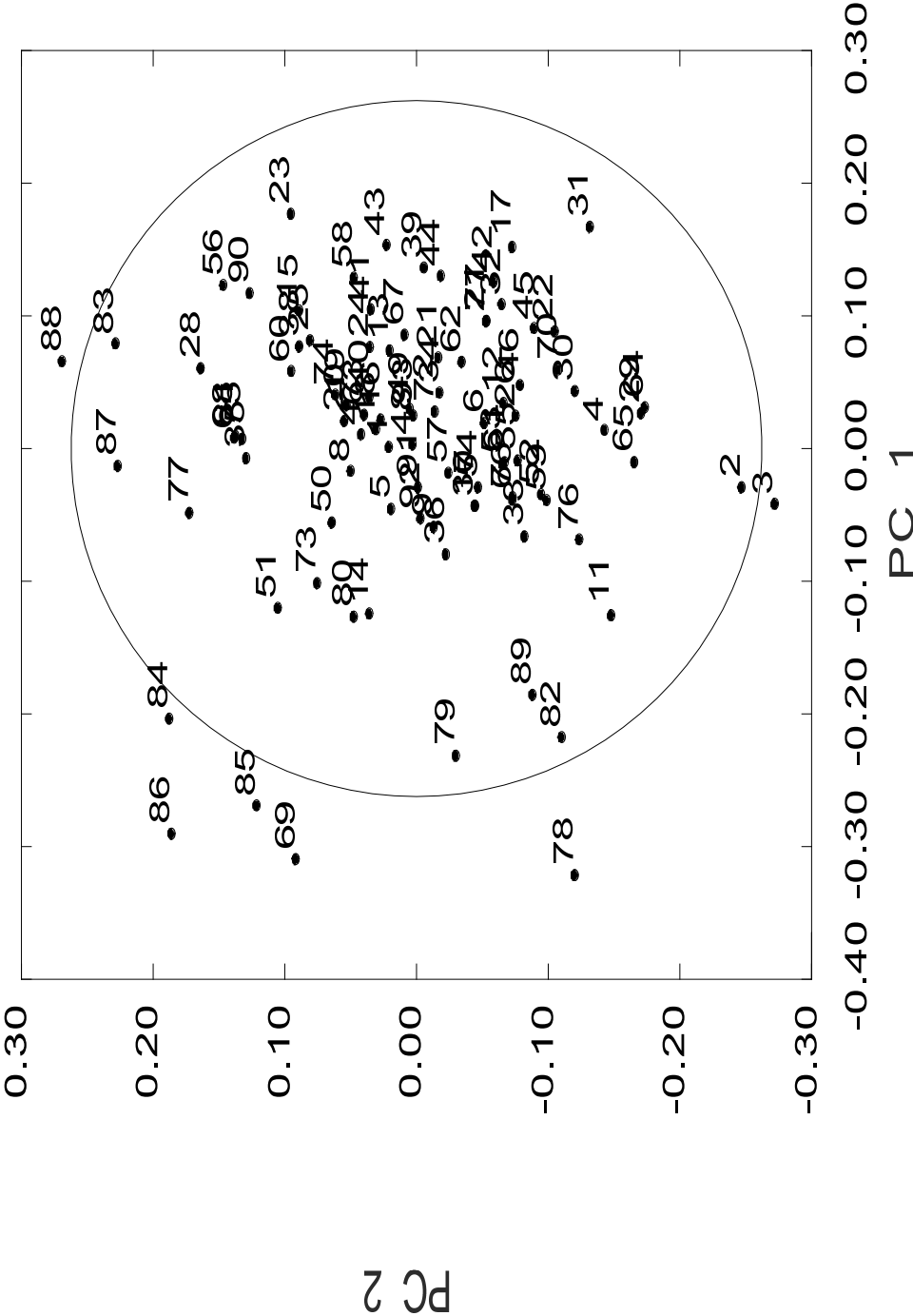


Рис. 1. Досліджені сорти у координатах двох перших головних компонент

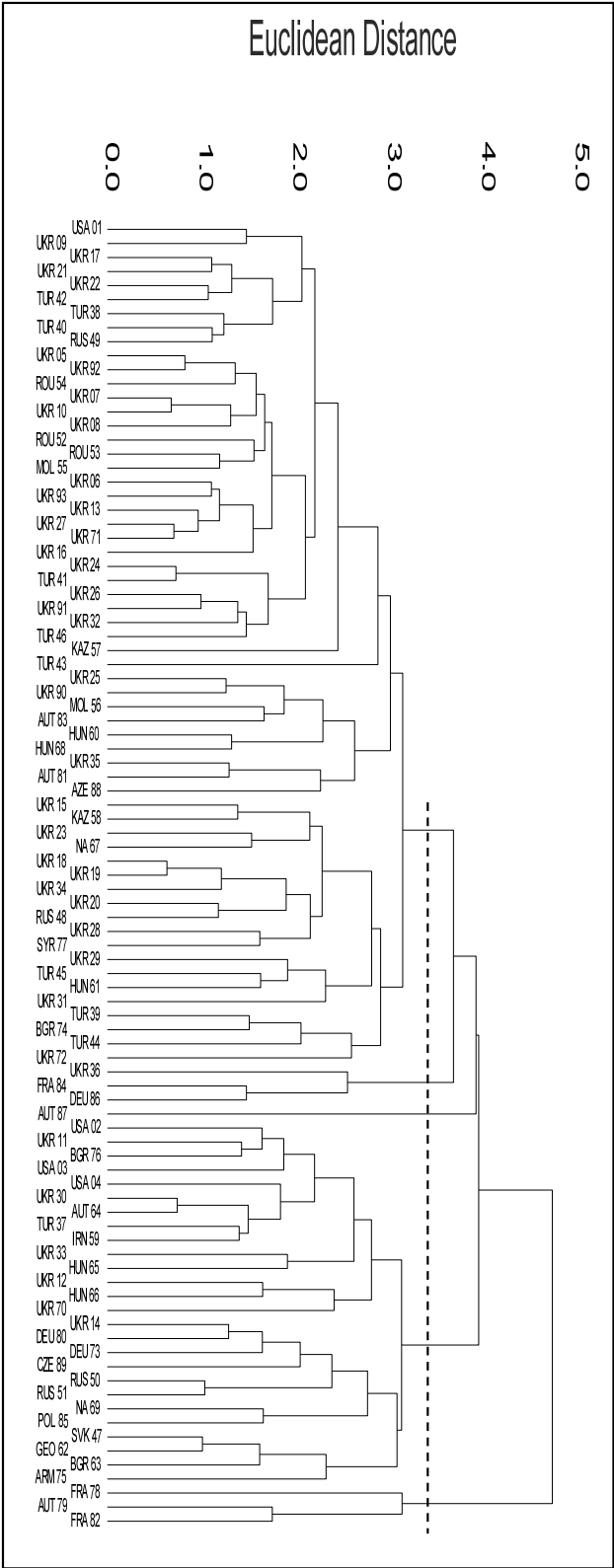


Рис. 2. Кластерний аналіз 93 сортів м'якої озимої пшениці із екологічного випробування. Позначення зразків складається із коду країни (три літери) та номера зразка відповідно до таблиці 1. Межа поділу кластерів показана пунктиром. Кластер 1: зразки USA_01...UKR_72; кластер 2: UKR_36...DEU_86; кластер 3: AUT_87; кластер 4: USA_02...ARM_75; кластер 5: FRA_78...FRA_82

застосування PCA-аналізу при сортовивченні та у подібних дослідженнях, слід лише застерегти від занадто формального, некритичного його залучення. Головний критерій успішності — суттєве зменшення загального числа змінних; у даній ситуації ця вимога не виконується через відсутність суттєвих залежностей між змінними.

На відміну від PCA, кластерний аналіз типово застосовують для виявлення груп не характеристик, а досліджуваних зразків, у даному випадку — сортів, виходячи із множини їхніх індивідуальних характеристик. У нашому досліді цей аналіз дозволив виявити досить змістовну приховану структуру даних, яка виявилася суттєво іншою від поділу за географічним принципом (рис. 2). Для межі близько 3,5 од. виділено 5 кластерів, що дуже різнилися за чисельністю: 60, 3, 1, 26 та 3 сорти за середніми характеристиками ознак. До кластера 3 включено лише один сорт LUPUS із Австрії. В умовах досліджень він виділявся високим врожаєм, підвищеною седиментацією, високорослістю (110 см), стійкістю до борошнистої роси та відносно пізньою датою колосіння. Найбільш чисельний кластер 1 містив сорти усіх регіонів, за виключенням сортів Франції та Німеччини. Сортам цього кластера притаманні добра виповненість зерна та понижена стійкість до борошнистої роси. До кластера 2 віднесено три короткостеблі сорти різного походження (№№ 36, 84, 86) із відносно дрібним зерном. Другий за чисельністю кластер 4 вирізнявся доброю виповненістю зерна та пониженим показником седиментації. Кластер 5 об'єднав 3 короткостеблі європейські сорти з урожаєм 100 г і нижче, проте із крупним зерном. Отже, застосування кластерного аналізу дало можливість виділити із загального сортименту групи зразків з певними комбінаціями ознак, що неможливо при поділі тільки за географічним принципом.

Висновки. Результати випробування за своєю сутністю є такими, що їх можна найбільш повно і об'єктивно характеризувати за багатомірним координатно-просторовим методом.

Розроблена технологічна схема аналізу передбачає багатопланове вивчення на кількох рівнях: на рівні окремих ознак та їх залежностей, на рівні еколого-географічних груп та на рівні «прихованих» структур, виявлених засобами багатовимірної статистики (кластерним аналізом, методом головних компонент та ін.).

Застосування запропонованого підходу дозволило виділити перспективні для селекції зразки та дослідити закономірності мінливості і комбінування окремих ознак.

Дана схема рекомендується для застосування як основа алгоритмів і сортовипробувань колекцій та технологій аналізу результатів селекційного матеріалу.

За стійкістю до борошнистої роси кращими були сорти Франції та Німеччини, а найслабкішими у цьому сенсі були сорти із Близького Сходу. Загалом міжрегіональні відмінності виражені не дуже сильно, різниця між середніми за кожною із ознак не перевершувала 2 балів.

Із 93 проаналізованих зразків 51 є носіями хоча б однієї бажаної характеристики. Сорт MV PANTLIKA з Угорщини комбінує їх одразу 3: врожайність, масу 1000 зерен та короткостеблість. 11 сортів (№№ 29, 31, 32, 53, 58, 66, 72, 78, 82, 87 та 90) несуть по дві бажані ознаки і 39 сортів виділилися за однією ознакою.

Серед стійких до борошнистої роси сортів переважали пізньостиглі європейські, не адаптовані до посушливих умов нашого південного Степу.

Застосування кластерного аналізу дозволило виділити із загального сортименту зразки з певними комбінаціями ознак, що неможливо було б одержати при поділі тільки за географічним принципом.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Рябчун В. К., Богуславський Р. Л. Генетичні ресурси рослин та їх роль у селекції // Зб. наукових праць «Теоретичні основи селекції польових культур». До 100-річчя створення Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва. — Харків, 2007. — С. 363–398.
2. Литвиненко М. А., Субота Г. М. Генофонд зернових колосових культур Селекційно-генетичного інституту. — Одеса: НАЦ– НАІС, 2003. — С. 98.
3. Широкий унифицированный классификатор СЭВ рода *Triticum* L. — Ленинград, 1989. — 43 с.
4. Кірян В. М. Побудова статус метричних моделей ознаки зимостійкості пшениці // Зб. наукових праць СГП. — Одеса, 1999. — Вип. 1(41). — С. 64–68.
5. Лавриненко Ю. О., Вожегова Р. А., Коковіхін С. В., Грабовський П. В. Оцінка якісних показників зерна пшениці озимої при вирощуванні в умовах Півдня України залежно від умов зволоження та фону мінерального живлення // Посібник українського хлібороба. — 2012. — Т. 2. — С. 187–190.
6. Орлюк А. П. Адаптивний і продуктивний потенціал пшениці / А. П. Орлюк, К. В. Гончарова. — Херсон, 2002. — С. 274.

Надійшла 25.11.2014.

UDC 631.524:631.6.02:089

Sechniak V. Yu., Khokhlov O. M. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

THE CHARACTERISTICS OF THE INTRODUCED VARIETIES OF WINTER BREAD WHEAT WITH SUCCESSIVE INFORMATION DISCLOSURE

Wide range and complexity of variation in collections of introduced wheat biodiversity require special thoroughness at developing of testing technologies. Proposed scheme includes exposure of varieties regional specifics, exploring of traits inter-correlations, filtering out better traits combination carriers, PCA transforming of traits set, and clustering of varieties. The scheme may serve as template of typical flowchart at collections/nurseries investigation. As a result of current study the set of potential donors for breeding was selected.

УДК 631.524:631.6.02:089

Сечняк В. Е., Хохлов А. Н.**ХАРАКТЕРИСТИКА ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ
ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫМ
РАСКРЫТИЕМ ИНФОРМАЦИИ**

Разработка технологий оценки интродуцированных коллекций требует особой тщательности. Использование предложенной схемы анализа позволило выделить перспективные для селекции образцы пшеницы мягкой озимой и проследить закономерности изменчивости и комбинирования отдельных признаков. Данная схема может стать основой типовых алгоритмов и технологий анализа результатов сортоиспытаний коллекций и селекционного материала.

НАСІННИЦТВО ТА НАСІННЄЗНАВСТВО

УДК 633.1:631.53.011/02

А. М. ВИШНЕВСЬКА, к. с.-г. н., ст. наук. співроб.
СГІ-НЦНС, Одеса
e-mail: allavish@ukr.ne

ЯКІСТЬ НАСІННЯ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ, СФОРМОВАНОГО І ЗБЕРЕЖЕНОГО В РІЗНИХ УМОВАХ

За наведеними даними якість насіння пшениці озимої значною мірою залежить від ступеня його проростання в колосі, спровокованого вологою погодою під час жнив. Встановлено граничні параметри ступеня проростання насіння, за яких його біологічні властивості різко погіршуються. Доведено, що погіршення якості насіння супроводжується непродуктивними витратами сухої речовини, що і є основною причиною зниження регенеруючої здатності пророслого у польових умовах насіння.

Викладена також динаміка життєздатності насіння за різних умов і термінів зберігання.

Ключові слова: озима пшениця, насіння, посівні якості, зберігання, контрольовані умови, життєздатність, ступінь проростання.

Вступ. Вплив несприятливих погодних умов на насіння особливо відчутний з моменту відчленування зернівок від материнських рослин, тобто в період воскової-повної стиглості. Якщо в цей період випадають надмірні дощі, насіння насичується вологою і киснем, в ньому посилюються процеси дихання й гідролізу запасних речовин, в результаті насіння проростає «на пні». В такого насіння накопичується багато вільних амінокислот, цукру та інших продуктів розпаду запасних речовин, що служать живильним субстратом для паразитних і сапрофітних грибів. Останнє зумовлюється значним підвищенням активності гідролітичних ферментів за вологої погоди у передзбиральний період [1, 2].

Природно виникає питання: наскільки погіршується якість такого насіння і як його зберегти, принаймні, до осінньої чи весняної сівби. Особливо це важливо для цінних сортозразків — колекцій, ліній, селекційного й генетичного матеріалу.

У науковій літературі є відомості про те, що ще на початку минулого сторіччя професор П. Р. Сльозкін, вивчаючи регенеруючу здатність насіння, установив граничну довжину первинних корінців (у пшениці 10 мм), за перевищення якої проросле і підсушене насіння неспроможне відновлювати процес проростання, а за даними Д. М. Манжоса і М. О. Кіндру-

ка [3]. проросле насіння пшениці озимої з довжиною ростків понад 7 мм знижує польову схожість у порівнянні із непророслим на 20–25 %.

Враховуючи актуальність цієї проблеми, ми поставили перед собою ціль — дослідити посівні якості насіння, спровокованого вологою погодою до проростання в колосі, та з'ясувати, як довго його можна зберегти в умовах природного та штучного клімату.

Умови та методика проведення досліджень. Для вивчення впливу умов формування на життєздатність і тривалість зберігання насіння з різним ступенем початкового проростання (кільчене, з ростками різної довжини) його пророщували в лабораторних умовах, після чого висушували до стандартної (14 %) вологості й аналізували. Частину насіння випробовували на польову схожість. Крім того, вивчали насіння, сформоване в природних умовах вологого літа (2010 р.), що спричиняли його проростання в колосі. Для цього насіння з різним ступенем проростання відбирали із партій, отриманих дослідними господарствами та селекційними підрозділами СГП–НЦНС.

Показники посівних якостей насіння (енергія проростання, лабораторна схожість та ін.) визначали згідно з ДСТУ 4138–2002, інтенсивність початкового росту — за методикою С. П. Лифенка [4]. Сортозразки зберігали у контрольованих (кліматична камера, температура $+4 \pm 1$ °C, відносна вологість повітря близько 50 %) і неконтрольованих (склад) умовах у герметичному й негерметичному пакуванні.

Польову схожість визначали шляхом висіву насіння на 1 погонному метрі рядка у чотириразовій повторності. Глибина заробки насіння у ґрунт — 6 та 10 см.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили методом дисперсійного аналізу за Б. О. Доспеховим [5].

Результати досліджень. В наших дослідях життєздатність насіння пшениці озимої залежала від ступеня його проростання, зумовленого різними умовами (табл. 1). Енергія проростання, лабораторна схожість і сила росту кільченого насіння усіх сортів практично залишалася на рівні цих показників у непророслого насіння. Деяка тенденція до їхнього підвищення хоч і відмічалася, але різниця між ними і життєздатністю непророслого насіння не виходила за межі найменшої істотної різниці ($HP_{0,05}$). Те ж саме стосується й маси 100 сухих ростків і корінців, за винятком сортів Вдала і Вікторія одеська. У першому сорті в кільченого насіння суттєво підвищувалася маса корінців, а у другому, навпаки, вона знижувалася. Це, вочевидь, можна пояснити сортовою реакцією на накопичення сухої маси корінців у 10-денних проростків.

У пророслого насіння з ростком довжиною до половини зернівки життєздатність суттєво падала: енергія проростання — на 9–15 %, лабораторна схожість — на 4–10 %, сила росту — на 6–14 %, маса 100 сухих ростків — на 0,05–0,27 г, маса 100 сухих корінців — на 0,06–0,14 г. Ще більше знижувалися ці показники у пророслого насіння з довжиною

Таблиця 1

Життєздатність насіння пшениці м'якої озимої залежно від ступеня проростання, 2011–2012 рр.

Сорт	Варіант	Енергія про-рос-тання, %	Лабора-торна схо-жість, %	Сила рос-ту, %	Маса 100 сухих рост-ків, г	Маса 100 сухих корінців, г
Вдала	непроросле насіння	95	98	95	0,93	0,46
	кільчене насіння	95	96	94	0,92	0,53
	з ростком до 1/2 зернівки	80	88	89	0,88	0,40
	з ростком до цілої зернівки	82	84	75	0,73	0,33
Вікторія одеська	непроросле насіння	96	98	96	1,06	0,45
	кільчене насіння	98	100	97	1,03	0,40
	з ростком до 1/2 зернівки	87	94	82	0,87	0,39
	з ростком до цілої зернівки	83	86	77	0,79	0,33
Одеська 267	непроросле насіння	95	96	93	0,89	0,47
	кільчене насіння	97	99	93	0,86	0,44
	з ростком до 1/2 зернівки	83	88	82	0,72	0,33
	з ростком до цілої зернівки	66	70	60	0,65	0,27
Скарб-ниця	непроросле насіння	94	96	94	0,97	0,55
	кільчене насіння	96	98	92	0,95	0,52
	з ростком до 1/2 зернівки	83	91	80	0,83	0,45
	з ростком до цілої зернівки	77	88	77	0,70	0,41
Р %		3,3	3,4	4,4	4,3	4,5
НІР _{0,05}		2,0	1,9	2,0	0,06	0,04

ростків до цілої зернівки — відповідно на 13–29; 8–26; 17–33 %; 0,20–0,27 і 0,12–0,23 г.

Варто зазначити, що не в усіх сортів показники життєздатності залежно від початкового проростання насіння змінювалися однаковою мірою. У сорті Одеська 267 їх мінливість була більшою, ніж в інших сортів, особливо у пророслого насіння з довжиною ростків до цілої зернівки.

У сортозразках, сформованих в умовах вологого літа 2010 р., ступінь проростання насіння залежав як від умов його досягання, так і сортових особливостей. Про це свідчать дані, отримані за аналізування окремих сортозразків (табл. 2).

Більш стійкими до проростання насіння в колосі були сорти Епоха од., Заможність, Землячка од., Місія одеська і Служниця од. Ступінь проростання насіння цих сортів коливався від 2,5 до 12,8 %, до того ж пророслого насіння з довжиною ростків понад 1/2 зернівок не було. Менш стійкими до проростання були сорти Вдала, Княгиня Ольга, Косовиця і Ластівка од., а в сорті Скарбниця ступінь проростання насіння був найбільшим — 72,5 %. Інші сорти (Антонівка, Благодарка одеська, Заграва одеська, Годувальниця од., Писанка) відзначалися середньою стійкістю

Таблиця 2

Ступінь проростання і життєздатність насіння озимої м'якої пшениці,
вищого у несприятливому 2010 році

Сорт	Ступінь проростання, %		Життєздатність, %	
	всього	в т. ч. з ростками понад 1/2 зернівки	енергія проростання	лабораторна схожість
Антонівка	23,3	–	99	99
Благодарка од.	24,8	–	99	99
Вдала	32,3	–	95	97
Годувальниця од.	21,5	–	98	98
Епоха од.	10,5	–	97	98
Заграва одеська	31,8	–	97	98
Заможність	12,8	–	98	99
Землячка од.	10,0	–	97	97
Княгиня Ольга	49,5	–	98	99
Косовиця	49,0	3,0	95	98
Ластівка од.	40,6	0,5	98	99
Місія одеська	6,8	–	98	98
Скарбниця	72,5	0,8	90	94
Служниця од.	2,5	–	97	99
Писанка	29,5	–	94	99

до проростання насіння — від 23,3 до 31,8 %. Незважаючи на сортові відміни щодо проростання насіння в колосі, це суттєво не впливало на енергію проростання та схожість.

Отже, на підставі отриманих результатів досліджень можна впевнено стверджувати, що проростання насіння в колосі, спровоковане вологою погодою, суттєво не впливає на його життєздатність, якщо воно лише накілчилося та мало незначну кількість пророслих насінин з ростками понад половину зернівки. За лабораторною схожістю воно в основному може відповідати вимогам чинних нормативних документів.

Зовсім інша картина спостерігається за визначання польової схожості насіння, що кілчилося і проростало в колосі. Для цього відбиралися зразки насіння з різним ступенем проростання в колосі і після висушування висівалися в ґрунт на глибину 6 і 10 см (табл. 3).

Незважаючи на високі показники схожості й енергії проростання кілченого насіння, що визначалися у лабораторних умовах, з висівом його у ґрунт ці показники у порівнянні з непророслим насінням різко знижувалися — на 6–12 % у м'якій пшениці і на 10 % — у твердій при заробці на глибину 6 см і відповідно на 10–12 і 11–16 % при глибині заробки 10 см.

Понижену життєздатність насіння, що проростало в колосі, за випробування у польових умовах можна пояснити його зниженою регенеруючою здатністю, пов'язаною з непродуктивними втратами сухої речовини та екстрактивних цукрів. У непророслого насіння ці втрати

Таблиця 3

Польова схожість насіння озимої пшениці залежно від ступеня проростання в колосі, %, 2010–2011 рр.

Культура	Сорт	Непророс- ле насіння	Кільчене насіння	З ростком понад 1/2 зернівки	НІР _{0,05}
Пшениця м'яка озима	Глибина заробки насіння 6 см				5,5
	Антонівка	85	79	–	
	Епоха одеська	84	75	–	
	Косовиця	87	77	37	
	Скарбниця	86	74	29	
Пшениця тверда озима	Дельфін	80	70	27	4,0
	Континент	82	72	25	
Пшениця м'яка озима	Глибина заробки насіння 10 см				6,2
	Антонівка	79	68	–	
	Епоха одеська	80	70	–	
	Косовиця	81	69	19	
	Скарбниця	78	67	19	
Пшениця тверда озима	Дельфін	76	60	14	4,6
	Континент	74	63	15	

є мінімальними — приблизно удвічі меншими, ніж у кільченого і в 6–20 разів у порівнянні з пророслим насінням з ростками понад половину зернівки.

Зкладене на тривале зберігання в кліматичну камеру в герметичне пакування непроросле насіння сорту озимої м'якої пшениці Альбатрос одеський з вихідною (початковою) схожістю 98 % протягом восьми років майже не втрачало своєї життєздатності (рис.).

За зберігання в цих же умовах, але у негерметичній тарі, його схожість через півтора року знизилася до 94 %, а ще через рік — до 58 %. Через шість років схожість насіння, що зберігалася у негерметичному пакуванні, знизилася до 6 %, а в герметичному — лише до 86 %. За зберігання у природних умовах (комора) у герметичній тарі схожість через три роки понизилася до 90 %, а через шість років — до 40 %.

При зберіганні у негерметичному пакуванні через два з половиною роки насіння повністю втратило якість. Наведені дані вказують на доцільність зберігання насіння у герметичних умовах, особливо, якщо це селекційний матеріал, який передбачено зберігати протягом тривалого часу (понад 2 роки).

Динаміка схожості при зберіганні кільченого й пророслого насіння озимої м'якої пшениці зовсім інша. Кільчене насіння при зберіганні в камері у герметичній тарі через півтора роки знизило схожість з 96 до 62 %, а через п'ять років воно стало несхожим. У негерметичних умовах таке насіння повністю втратило життєздатність через два роки, а те, що зберігалася в коморі, — на рік раніше.

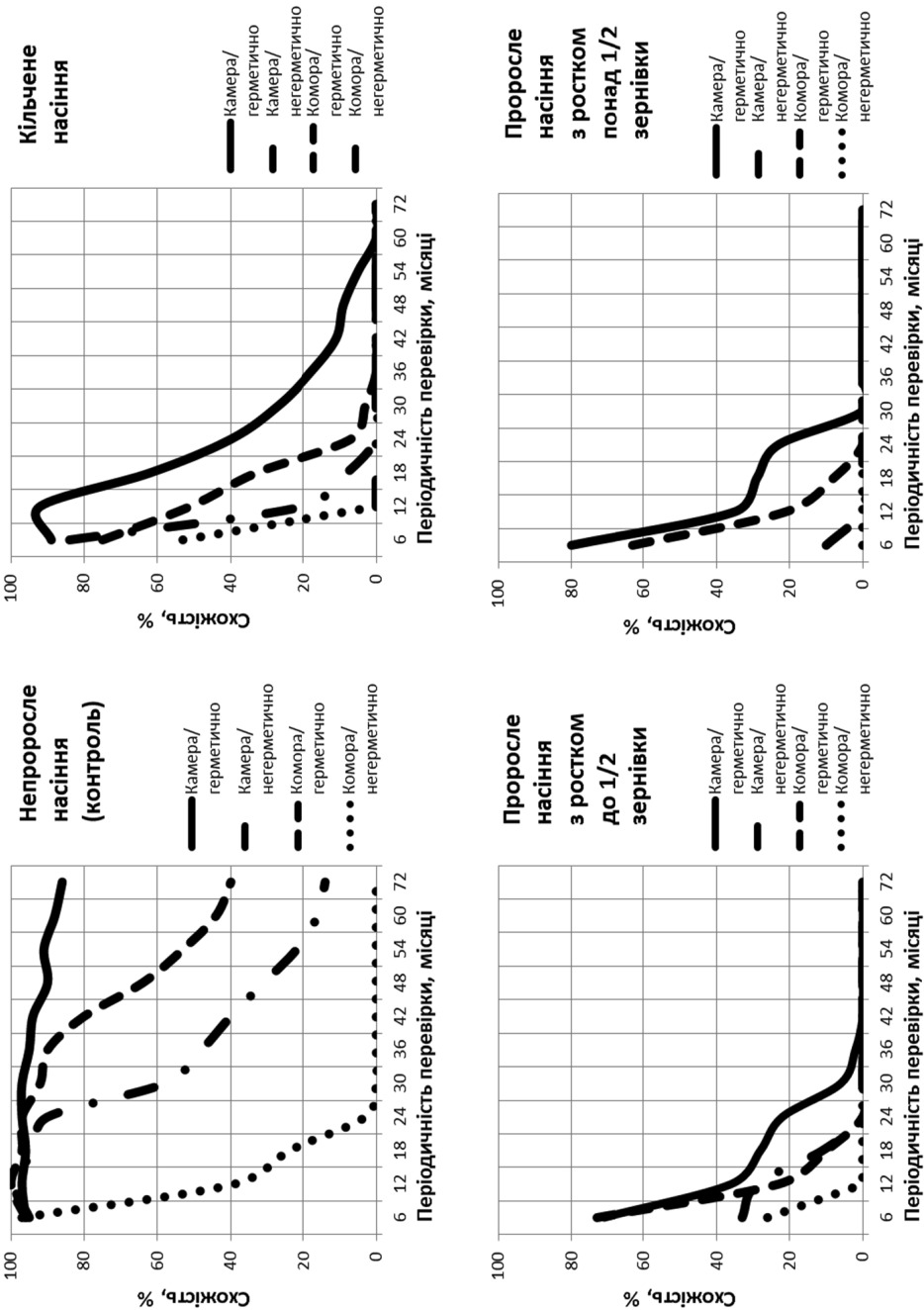


Рис. Динаміка схожості непророслого й пророслого насіння сорту пшениці озимої Альбатрос одеський залежно від умов зберігання (2007 р.)

Проросле насіння з довжиною ростків до половини зернівки повністю втрачало схожість при зберіганні в камері у герметичному пакуванні через три з половиною роки, у негерметичному — через два роки, а при зберіганні в коморі — відповідно через два і один рік. У насінні з довжиною ростків до цілої зернівки при зберіганні в контрольованих умовах у герметичній тарі схожість через два роки знизилася з 84 до 23 %, а за зберігання в негерметичному пакуванні воно через рік втратило схожість. Ще швидше втрачало життєздатність проросле насіння при зберіганні в коморі: у герметичній тарі — через два роки, у негерметичній — через півроку.

Висновки. 1. Якість насіння пшениці озимої значною мірою залежить від ступеня його проростання в колосі, спровокованого вологою погодою під час жнив. У кільченого насіння енергія проростання і лабораторна схожість практично залишаються на рівні показників непророслого насіння або навіть дещо підвищуються (на 2–4 %). У пророслого насіння з ростками довжиною до половини зернівки енергія проростання знижується на 9–15 %, схожість — на 4–10 %, сила росту — на 6–14 %, маса 100 сухих ростків — на 0,05–0,19 г, маса 100 сухих корінців — на 0,06–0,14 г. Ще більше понижуються ці показники у насінні з довжиною ростків від половини до цілої зернівки.

2. Схожість кільченого насіння за зберігання у контрольованих умовах в герметичній тарі через півроку знижується від 99–86 до 95–85 %, через рік — до 91–75 %, а через 5–6 років насіння втрачає схожість повністю. Схожість пророслого насіння з довжиною ростків до цілої зернівки за зберігання в контрольованих умовах через півроку знижується до 80–40 %, а при зберіганні протягом цього періоду в негерметичній тарі воно стає повністю непридатним.

3. Адекватно показникам життєздатності знижується польова схожість насіння: у кільченого — на 6–16 %, у пророслого — на 50–69 %.

4. Погіршення якості насіння супроводжується непродуктивними витратами сухої речовини, що і є основною причиною зниження регенеруючої здатності кільченого й пророслого насіння у польових умовах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Калинин Ф. Л. Биохимические основы борьбы с предуборочными биологическими потерями урожая озимой пшеницы / Ф. Л. Калинин, Г. В. Андриевская // Физиология и биохимия культурных растений. — 1981. — Т.13. — С. 36–38.
2. Сечняк Л. К. Экология семян пшеницы / [Л. К. Сечняк, Н. А. Киндрук, О. К. Слюсаренко и др.]. — М.: Колос, 1983. — 349 с.
3. Манжос Д. М. Биологические и хозяйственно-ценные свойства семян / Д. М. Манжос, Н. А. Киндрук // Мироновские пшеницы / [под ред. В. Н. Ремесло. — 2-е изд., дополн. и перераб.]. — М.: Колос, 1976. — С. 278–296.

4. Лыфенко С. Ф. Растительный прибор для определения силы начального роста, всхожести и энергии проростания / С. Ф. Лыфенко // Науч. труды Всес. селекц.-генет. ин-та. — 1964. — Вып. 6. — С. 226–229.
5. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. / Б. А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.

Надійшла 02.12.2014.

UDC 633.1:631.53.011/02

Vishnevskia A. M. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

THE VIABILITY OF WINTER WHEAT SEEDS WHICH WERE FORMED IN ADVERSE WEATHER AND STORED UNDER VARIOUS ENVIRONMENT

Viability of seeds of wheat winter considerably depends on extent of their germination in an ear, provoked by damp weather during cleaning. Boundary parametres of extent of germination of seeds at which its biological properties sharply worsen are established. It is proved that deterioration of seeds is accompanied by unproductive losses of solid which and are the main reason of decrease in recycling ability of the sprouted seeds in field conditions.

УДК 633.1:631.53.011/02

Вишневская А. Н.

КАЧЕСТВО СЕМЯН ПШЕНИЦЫ ОЗИМОЙ, СФОРМИРОВАННЫХ И СОХРАНЕННЫХ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ

Качество семян пшеницы озимой в значительной мере зависит от степени их прорастания в колосе, спровоцированного влажной погодой во время уборки. Установлены граничные параметры степени прорастания семян, при которых его биологические свойства резко ухудшаются. Доказано, что ухудшение качества семян сопровождается непродуктивными потерями сухого вещества, которые и есть главной причиной снижения регенерирующей способности проросших семян в полевых условиях.

УДК 631.526.3:633.31.811.98

А. В. ТИЩЕНКО, наук. співроб.,
Інститут зрошуваного землеробства НААН, Херсон
e-mail: izpr.ua@mail.ru; dkonline@rambler.ru

ВПЛИВ УМОВ ЗВОЛОЖЕННЯ І РЕГУЛЯТОРА РОСТУ РОСЛИН ПЛАНТАФОЛ 30 НА ПОСІВНІ ЯКОСТІ НАСІННЯ ЛЮЦЕРНИ

Наведені результати досліджень з вивчення впливу умов зволоження та застосування регулятора росту Платафол 30 і терміну зберігання на посівні якості насіння люцерни сортів Унітро і Зоряна. В умовах краплинного зрошення насіння мали високу масу 1000 насінин з відповідно кращими показниками енергії проростання та лабораторної схожості. Застосування Платафолу 30 підвищувало масу 1000 насінин на 1,5–3,1 % за краплинного зрошення та 1,0–3,4 % в умовах природного зволоження в порівнянні з контрольними варіантами. Показники енергії проростання та лабораторної схожості залежали від термінів зберігання. Їхнє збільшення сприяло підвищенню посівних якостей насіння за рахунок зменшення у ньому твердокам'яного насіння.

Ключові слова: люцерна, сорт, насіння, якість, енергія проростання, лабораторна схожість, регулятор росту.

Вступ. Насіння, як відомо, є носієм біологічних і господарських властивостей рослин, а тому високі посівні якості його забезпечують і високу врожайність [1, 2].

Цінність насіння як посівного матеріалу залежить від комплексу факторів. Якість його визначається природою генотипу сорту і умовами навколишнього середовища в період їхнього формування, розвитку та зберігання. До основних факторів, що впливають на якість насіння, відносяться: погодні умови під час формування насіння (екологічні умови) і прийоми агротехніки [3].

Стан визначення проблеми. Утворення та розвиток насіння на рослині відбувається неодноразово, що зумовлює різну забезпеченість його під час формування поживними речовинами. Шляхом поліпшення забезпечення насіння, яке формується, елементами мінерального живлення, водою з урахуванням погодних умов і фаз розвитку, можна отримати високоякісне насіння. Чимала роль у його формуванні належить умовам живлення рослин, оскільки поживні елементи беруть участь у багатьох реакціях синтезу та обміну речовин, входячи до складу білків, нуклеїнових кислот та інших сполук. Насіння матиме високі якості в тому випадку, якщо співвідношення елементів живлення буде оптимальним.

У багатьох випадках неповноцінність насіння зумовлюється відсутністю будь-якого з мікроелементів у ґрунті. Найбільш вивчений в цьому відношенні бор. Застосування бору підвищує крупність насіння [4].

Обробка насіння люцерни перед висівом або рослин молібденом, заданими Є. Я. Суманова і М. С. Висоцької (1970), позитивно впливала на масу 1000 насінин, енергію проростання, лабораторну схожість, та й у них було на 10–12 % менше твердокам'яного насіння. Відомо також, що мікроелементи Mn, Mo, Cu, Zn підвищують біологічну повноцінність насіння та стійкість рослин до ряду хвороб [5].

Істотно впливає на посівні якості та врожай насіння зрошення посівів. Крім того, воно значно підвищує коефіцієнт розмноження насіння, що особливо важливо для швидкого впровадження у виробництво нових сортів [6].

Завдання і методи досліджень. Завданням дослідження є розробка та наукове обґрунтування агротехнологічних прийомів підвищення насінневої продуктивності та посівних якостей насіння у рік сівби.

Дослідження проводилися протягом 2011–2013 рр. на полі Інституту зрошуваного землеробства НААН України. Розташоване воно в сухостеповій зоні на Інгuleцькому зрошуваному масиві.

Метод закладки польового досвіду — розщеплені ділянки. Головні ділянки (фактор А) — умови зволоження (без зрошення і краплинне зрошення); суб-ділянки (фактор В) — сорти люцерни Унітро (*Medicago varia* Mart.) і Зоряна (*Medicago sativa* L.); суб-субділянки (фактор С) — позакореневе підживлення регулятором росту Плантафол 30: контроль 1 — без підживлення; контроль 2 — обприскування водою; позакореневе підживлення Плантафол 30 за міжфазними періодами: 3 — «початок стеблуння–початок бутонізації» (Пс–Пб); 4 — «початок бутонізації — початок цвітіння» (Пб–Пц) і 5 — «початок цвітіння — масове цвітіння» (Пц–Мц). Строк сівби ранньовесняний. Посів широкорядний з міжряддям 70 см. Посівна площа ділянки — 60 м², облікова — 50 м², повторність чотириразова. Посівні якості насіння визначали за ДСТУ 4138–2002 «Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості».

Плантафол 30, за євростандартом, відноситься до повністю розчинних комплексних добрив (в Україні зареєстрований як регулятор росту), спеціально розроблений для листового підживлення. До його вмісту входять азот (NO₃ — 3 %, NH₄ — 3 %, NH₂ — 24 %), фосфор, калій і мікроелементи (сірка, бор, залізо, марганець, цинк, мідь), які забезпечують потреби рослин у різних елементах на всіх стадіях розвитку, що сприяє підвищенню врожаю та якості насіння сільськогосподарських культур.

Статистичну обробку врожайних даних проводили методом дисперсійного аналізу за В. А. Ушкаренко та ін. (2009).

Результати досліджень. Визначення маси 1000 насінин дозволяє дати оцінку запасів поживних речовин у насінні: чим вища маса 1000 насінин, тим більше у них поживних речовин.

Таблиця

Показники посівних якостей насіння різних сортів люцерни залежно від умов зволоження та застосування регулятора росту Платафол 30, середнє за 2011–2013 рр.

Умови зво- ложення (фактор А)	Сорт (фак- тор В)	Застосування Платафола 30 (фактор С)	Маса 1000 на- сінин, г	Якісні показники насіння залежно від терміну зберігання, %					
				3 місяці		6 місяців		1 рік	
				ЕПН	ЛСН	ЕПН	ЛСН	ЕПН	ЛСН
Без зрошення	Унітро	контроль 1	1,94	66	69	80	81	89	90
		контроль 2	1,95	68	70	81	82	90	91
		Пс–Пб	1,99	75	79	85	86	91	93
		Пб–Пц	2,00	73	76	86	87	90	93
		Пц–Мц	1,98	72	78	86	87	91	92
		середнє	1,97	71	74	84	85	90	92
	Зоряна	контроль 1	1,92	65	67	81	82	89	89
		контроль 2	1,93	65	67	81	82	89	90
		Пс–Пб	1,97	70	74	85	86	92	93
		Пб–Пц	1,98	72	74	85	87	92	94
		Пц–Мц	1,96	71	73	86	86	93	93
		середнє	1,95	69	71	84	85	91	92
	середнє		1,96	70	73	84	85	91	92
За зрошення	Унітро	контроль 1	2,04	72	75	81	83	91	93
		контроль 2	2,05	73	75	82	84	92	93
		Пс–Пб	2,09	77	79	87	89	94	96
		Пб–Пц	2,11	78	81	87	89	94	97
		Пц–Мц	2,08	78	80	87	88	93	95
		середнє	2,07	76	78	85	87	93	95
	Зоряна	контроль 1	2,04	71	74	82	84	91	92
		контроль 2	2,05	71	75	83	84	91	93
		Пс–Пб	2,08	75	79	86	88	93	95
		Пб–Пц	2,09	75	80	88	90	95	97
		Пц–Мц	2,07	75	78	87	89	95	96
		середнє	2,07	73	77	85	87	93	95
	середнє		2,07	75	78	85	87	93	95
НІР ₀₅		Оцінка істотності часткових відмінностей							
		А	0,28	13,4	8,6	4,7	10,1	0,7	3,7
		В	0,11	8,4	4,5	3,7	2,6	4,7	6,1
		С	0,07	2,6	3,7	2,9	2,2	2,5	2,8
		Оцінка істотності головних ефектів							
		А	0,09	4,2	2,7	1,5	3,2	0,2	1,2
		В	0,03	2,7	1,4	1,2	0,8	1,5	1,9
		С	0,03	1,3	1,9	1,5	1,1	1,3	1,4

Примітка: ЕПН — енергія проростання насіння, %; ЛСН — лабораторна схожість насіння, %.

За даними наших досліджень, високою масою 1000 насінин характеризувалися сорти за краплинного зрошення — 2,07 г, а в умовах природного зволоження вона становила 1,97 г у сорту Унітро і 1,95 г у Зоряни. Застосування Плантафола 30 в умовах природного зволоження збільшувало масу 1000 насінин на 1,5–3,1 % у сорту Унітро і 1,6–3,1 % у Зоряни. За краплинного зрошення та застосування регулятора росту маса 1000 насінин була в межах 2,08–2,11 г у сорту Унітро і 2,07–2,09 г у Зоряни, що перевищувало контрольні варіанти на 1,5–3,4 і 1,0–2,5 % відповідно. Саме насіння, вирощене у сприятливіших умовах, характеризувалося кращими показниками енергії проростання та лабораторної схожості, але воно було різне залежно від термінів зберігання (табл.).

Так, через 3 місяці після збирання, в умовах природного зволоження, енергія проростання насіння становила 70, а лабораторна схожість — 73 %. Сорт Унітро характеризувався більш високими показниками ЕПН — 71 і ЛСН — 74 %, сорт Зоряна — 69 і 71 % відповідно. Застосування регулятора росту підвищувало енергію проростання й лабораторну схожість насіння на 5,88–13,64 і 8,57–14,49 % у сорту Унітро й 7,69–10,77 і 8,96–10,45 % — у сорту Зоряна відповідно, у порівнянні з контрольними варіантами.

За зрошення енергія проростання зростала до 75, а лабораторна схожість — до 78 %. У сорту Унітро ці показники насіння були кращі на 4,11 і 1,30 % в порівнянні з сортом Зоряна. Застосування Плантафола 30 підвищувало ЕПН на 5,48–8,33 і ЛСН — на 5,33–8,00 % у сорту Унітро та на 5,63 і 4,00–8,11 % — у сорту Зоряна по відношенню до контрольних варіантів.

При аналізі посівних якостей насіння через 6 місяців і через один рік, незалежно від факторів впливу, енергія проростання і лабораторна схожість були вищі, що пояснюється зменшенням кількості твердокам'яного насіння.

Через 6 місяців енергія проростання зростала до 85, лабораторна схожість — до 86 %, а через рік ці показники були вищими і складали 92 і 94 % відповідно.

Аналіз посівних якостей насіння не виявив відмінностей між сортами. В умовах природного зволоження енергія проростання становила 84, а лабораторна схожість — 85 %, при зрошенні ці показники були кращі — 85 і 87 % відповідно. Варіанти з застосуванням регулятора росту характеризувалися високою якістю насіння. В умовах природного зволоження ЕПН і ЛСН перевищували контрольні варіанти на 4,94–7,50 і 4,88–7,41 %, а в умовах зрошення на 3,62–7,32 і 4,76–7,14 % відповідно.

Через рік після збирання посівні якості насіння поліпшувалися, а енергія проростання і лабораторна схожість його в умовах природного зволоження були в межах 91 й 92, а при зрошенні — 93 і 95 % відповідно. При елімінаванні факторів сорту та зволоження Плантафол 30 істотно поліпшував посівні якості насіння.

Висновки. Насіння, вирощене в більш сприятливих умовах, мало високу масу 1000 насінин і відповідно характеризувалося кращими показниками енергії проростання та лабораторної схожості. Через 3 місяці після збирання в умовах природного зволоження енергія проростання насіння складала 70, а лабораторна схожість насіння — 73 %, за краплинного зрошення — 75 й 78 % відповідно. Через півроку при зрошенні ЕПН дорівнювала 85 та ЛСН — 87 %, а без зрошення — 84 й 85 % відповідно. Через рік посівні якості насіння були ще вищі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гафаров Ф. С. Совершенствование приемов возделывания люцерны на семена в условиях южной Лесостепи Республики Башкортостан: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.01 / ФГБОУ ВПО Башкирский ГАУ. — Уфа, 2012. — 19 с.
2. Денисов Е. А. Совершенствование технологических приемов возделывания люцерны на зеленую массу и семена в степной зоне Кузнецкой котловины: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.01 / ФГБОУ ВПО Алтайский ГАУ. — Барнаул, 2010. — 21 с.
3. Орлюк А. П. Адаптивний і продуктивний потенціал пшениці / А. П. Орлюк, К. В. Гончарова. — Херсон, 2002. — С. 239–242.
4. Волюнец А. П. Физиология плодобразования люцерны / А. П. Волюнец, Р. А. Прохорчик, Л. А. Пшеничная и др. // Мн.: Наука и техника. — 1989. — 208 с.
5. Атласова Л. Г. Влияние доз и сочетаний микроудобрений на продуктивность люцерны в условиях Центральной Якутии / Л. Г. Атласова // Агро XXI. — 2009. — № 10–12. — С. 36–37.
6. Шишела Т. А. Влияние элементов технологии возделывания люцерны на семенную продуктивность в Дельте Волги: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.09 / Т. А. Шишела; ФГБОУ ВПО АГУ. — Астрахань, 2009. — 21 с.

Надійшла 10.12.2014.

UDC 631.526.3:633.31.811.98

Tishchenko A. V. Institute of irrigated agriculture department selection

SOWING QUALITY OF ALFALFA SEEDS FORMING UNDER VARIOUS HUMIDITY ENVIRONMENT AND PLANT TREATMENT WITH PLANTAFOL 30

The results of studies on the effect of moisture, the use of growth regulator Plantafol 30 and duration of storage on sowing seed quality alfalfa varieties Unitro and Zoriana. In the context of drip irrigation weight of 1000 seeds was higher and had high vigor and laboratory germination. Application Plantafola 30 also increased the weight of 1000 seeds per 1,5–3,1 % under drip irriga-

tion and 1,0–3,4 % in terms of natural moisture. Indicators germination energy and laboratory germination increases with storage time of alfalfa seeds by reducing steadfast seeds.

УДК 631.526.3:633.31.811.98

Тищенко А. В.

**ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ УВЛАЖНЕНИЯ И РЕГУЛЯТОРА РОСТА
РАСТЕНИЙ ПЛАНТАФОЛ 30 НА ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА
СЕМЯН ЛЮЦЕРНЫ**

Приведены результаты исследований по изучению влияния влагообеспеченности, применения регулятора роста Плантафол 30 и продолжительности хранения на посевные качества семян люцерны Унитро и Зоряна. В условиях капельного орошения масса 1000 семян была выше и имела высокие показатели энергии прорастания и лабораторной всхожести. Применение Плантафола 30 также повышало массу 1000 семян на 1,5–3,1 % при капельном орошении и на 1,0–3,4 % в условиях естественного влагообеспечения. Показатели энергии прорастания и лабораторной всхожести семян повышались при увеличении сроков хранения семян люцерны за счет уменьшения количества твердокаменных семян.

УДК 631.527.01:633.2

В. В. БУГАЙОВ, наук. співроб.

Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН,

М. О. КІНДРУК, проф., д. с.-г. н., голов. наук. співроб.

СГІ–НЦНС, Одеса

e-mail: bugayov1949@yandex.ru

ОСОБЛИВОСТІ ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ МАЛОПОШИРЕНИХ ВИДІВ БАГАТОРІЧНИХ ЗЛАКОВИХ ТРАВ

Результати досліджень свідчать про різний характер проростання насіння деяких видів злакових трав. У свіжозібраного насіння пирію середнього лабораторна схожість стабільно зростає у перші місяці його зберігання. Для насіння житняка гребінчастого, костриці тонколистої та деяких інших видів властиве хвилеподібне коливання цього показника, коли максимальної величини він сягає в червні — серпні, а мінімуму у лютому — квітні. Для насіння пирію середнього характерний криволінійний тип коливання схожості за відсутності синхронності по роках.

Ключові слова: злакові трави, насіннезнавство, схожість насіння, добазове насіння, післязбиральне дозрівання.

Вступ. Зростаючий інтерес до вивчення біології проростання насіння малопоширених видів злакових трав пов'язаний з глобальним потеплінням, за якого набір впроваджуваних кормових культур обов'язково поповнюватиметься новими видами [1]. За означених умов вони можуть потіснити традиційні кормові рослини, які дещо знижуватимуть свої адаптивні можливості і не задовольнятимуть виробничих потреб. До таких видів можна віднести кострицю тонколисту (*Festuca tenuifolia* Sibth.), пирій середній (*Elytrigia intermedia* (Host) Nevski), стокolos прибережний (*Bromus riparia* Rehm.), житняк гребінчастий (*Agropyron cristatum* (L.) Gaertn.) та ін.

Для багатьох видів характерне різке коливання рівня схожості насіння по періодах упродовж першого року зберігання, що ускладнює їхнє введення в культуру [2]. У більшості з них пік проростання припадає на весняні місяці (березень — травень), а спад — на осінньо-зимові (листопад — січень).

Виявлено два типи проростання насіння злакових культур: хвилювий у вигляді одно-, дво- і багатoverшинної кривої, та криволінійний. За останнього свіжозібране насіння не реагує на сезон року [3]. Крім того, на ритм проростання насіння впливають екологічні умови [4, 5].

Мета досліджень — вивчення біології проростання свіжозібраного насіння малопоширених видів багаторічних злакових трав та його залежності від сезону року в процесі зберігання.

Матеріал, умови і методика досліджень. Досліджували сорти Барва костриці тонколистої, Хорс пирію середнього, Боян стоколо-су прибережного, Петрівський житняка гребінчастого, Колумб регнерії шорсткостеблової. Насіння вирощували на дослідному полі Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН (Вінницька область). Ґрунт — сірий середньосуглинковий. Забезпеченість рухомим фосфором — 121–142; обмінним калієм 81–116 мг/кг; рН — 5,7–5,8 одиниць.

У період формування і досягання насіння агрометеорологічні умови були неоднакові: у 2008 р. стояла тепла і надміру волога погода, а у 2009 р. — жарка і суха.

Лабораторну схожість визначали за ДСТУ 4138–2002. Пророщували насіння в термостаті ТПС-1 при 20 °С протягом 18 год і при 30 °С протягом 6 год.

Аналізували насіння не пізніше ніж через кожні 10 днів. Сезонні коливання схожості фіксували (після річного зберігання) за результатами перевірки один раз на два місяці.

Результати і обговорення. Темпи проростання насіння досліджуваних видів були різні і залежали від їхніх біологічних особливостей. Найбільш стабільно підвищувалась схожість свіжозібраного насіння під час зберігання у пирію середнього (рис. 1). За два роки партії цього виду відповідали вимогам ДСТУ 2240–93 на добазове насіння. У подальшому схожість підвищувалася, сягаючи максимуму на 46-й день у насінні урожаю 2008 р. і на 35-й день з урожаю наступного року.

В інших видів спостерігали хвилюподібне коливання лабораторної схожості насіння, що перебувало на зберіганні. Так, стоколос прибережний, зібраний у 2008 р., на 23-й день мав схожість 74 %, або на 33 % більше, ніж проаналізоване на 10-й день (рис. 2). У подальшому схожість змінювалася, а саме: на 39-й день вона сягала лише 50 %, що на 24 % менше, ніж визначена на 24-й день зберігання.

Аналогічна «пульсація» схожості насіння спостерігалася у регнерії шорсткостеблової (рис. 3).

Яскраво виражену мінливість лабораторної схожості протягом усіх аналізів виявлено у житняку гребінчастого (рис. 4) та костриці тонколистої (рис. 5). Це можна пояснити тим, що зазначені види слабкоадаптовані до наших умов і не зустрічаються в дикому стані [6].

Що стосується сезонних коливань схожості, то вони у житняку гребінчастого мало залежали від умов року (рис. 6). Найнижчу схожість спостерігали під час зберігання насіння у період від лютого по квітень, яка складала 80–82 % з урожаю 2008 р. і 78–80 % — 2009 р., що відповідно на 8–10 і 12–14 % менше у порівнянні з цим показником грудня. Найкращою була схожість за аналізування насіння в серпні (2008 р.) і в червні (2009 р.).

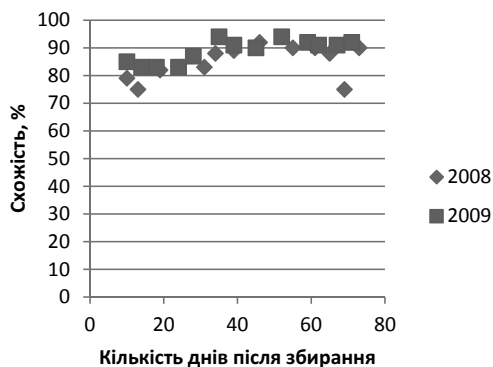


Рис. 1. Динаміка післязбирального досягання пір'ю середнього

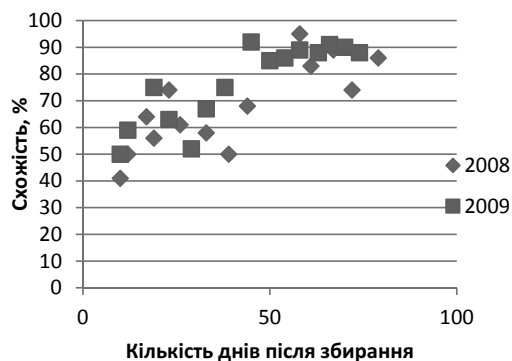


Рис. 2. Динаміка післязбирального досягання стоколосу прибережного

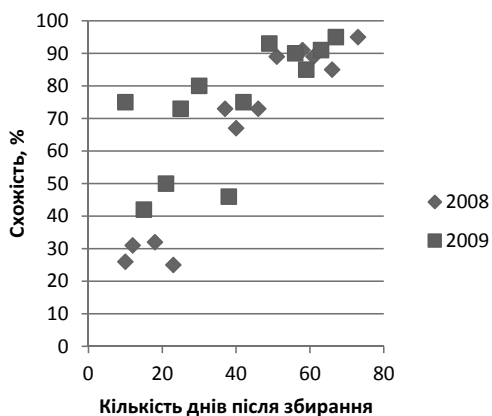


Рис. 3. Динаміка післязбирального досягання регнерії шорсткостеблові

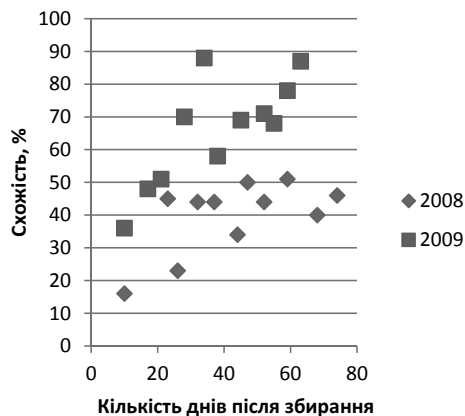


Рис. 4. Динаміка післязбирального досягання житняку гребінчастого

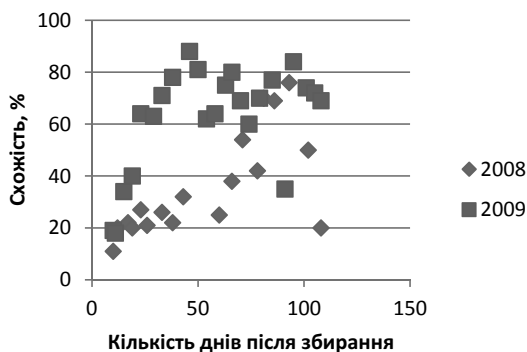


Рис. 5. Динаміка післязбирального досягання костриці тонколисті

Аналізуючи графік коливань лабораторної схожості насіння залежно від дат її визначення, можна констатувати певну синхронність зменшення цього показника після грудня і підвищення — після квітня. Дещо меншу синхронність зауважено в період з червня по липень. Якщо насіння

житняку гребінчастого, отриманого у 2008 р., у червні мало схожість 90, а у серпні 91 %, то схожість його з урожаєм 2009 р. була на 2 % нижчою, ніж визначена у червні.

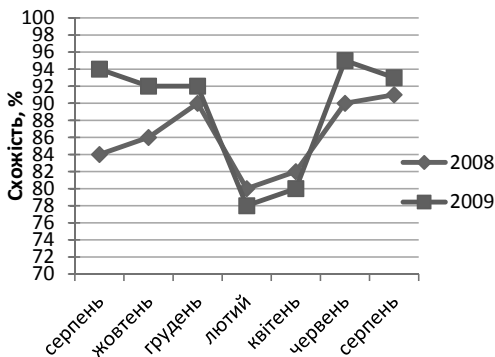


Рис. 6. Річні коливання схожості насіння житняку гребінчастого*

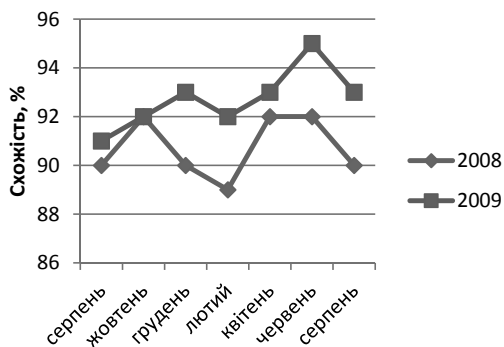


Рис. 7. Річні коливання схожості насіння костриці тонколистій*

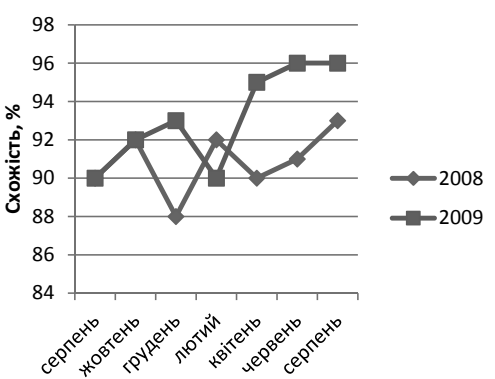


Рис. 8. Річні коливання схожості насіння стоколосу прибережного*

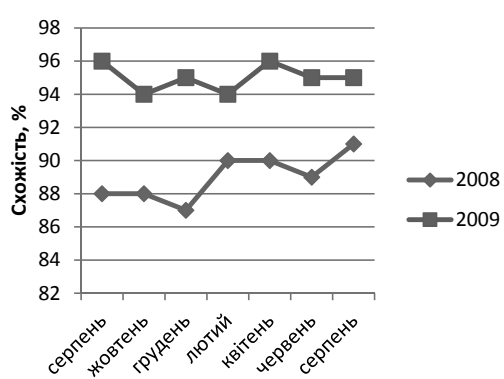


Рис. 9. Річні коливання схожості насіння регнерії шорсткостеблової*

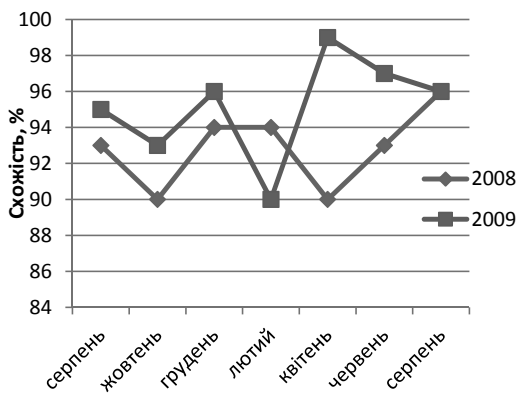


Рис. 10. Річні коливання схожості насіння пирію середнього*

* – після 12 місяців зберігання.

Дещо по-іншому змінювалася схожість насіння житняку гребінчастого в період від серпня по грудень. Так, якщо в насінні, вирощеному у 2008 р., вона збільшувалася з 84 у серпні і до 90 % у грудні, то насіння з урожаю 2009 р. знизило схожість від 94 % у серпні до 92 % в жовтні–грудні.

Насіння інших видів злакових трав теж змінювало лабораторну схожість залежно від строків його аналізування, проте різниця тут була незначна. За два роки досліджень розбіжність показників у костриці тонколистої складала лише 3–4 (рис. 7), у стоколосу прибережного — 5–6 (рис. 8), у регнерії шорсткостеблової — 2–4 % (рис. 9).

Щодо схожості насіння пирію середнього, то тут спостерігається криволінійний тип коливань за відсутності синхронності по роках (рис. 10). Це добре видно з аналізування насіння урожаю 2008 р. У квітні схожість його складала 90, тоді як у насінні 2009 р. вона сягала максимального значення — 99 %.

Висновки. Проведені дослідження свідчать про різний характер проростання насіння малопоширених видів злакових трав. Для свіжо-зібраного насіння пирію середнього властиве зростання лабораторної схожості у перші місяці зберігання. Іншим видам характерна «пульсація» схожості в період післязбирального досягання, особливо для житняку гребінчастого та костриці тонколистої, які в дикому вигляді не зустрічаються у зоні досліджень. Сезонні коливання схожості насіння проявляються у житняку гребінчастого, у якого цей показник сягає максимуму в червні–серпні, а мінімуму у лютому–квітні.

Отримані результати слід враховувати у насінницькій практиці, особливо в насінневому контролі лабораторної схожості, умови визначення якої у малопоширених видів злакових трав потребують перегляду та уточнення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Технология возделывания многолетних злаковых трав на корм и семена в условиях северных районов Томской области: методические рекомендации / [под. ред. Уразова Л. Д.]. — Томск: СибНИИСХ и Т. — 2007. — 9 с.
2. Gutterman Y. Annual rhythm of germination of Seeds of *Mesembryanthemum nodiflorum* 32 years after collection / Y. Cutterman, T. Gendler // *Seed Science Research*. — 2005. — N.15. — P. 249–253.
3. Ткаченко К. Г. Сезонные колебания в ритме проростания семян / К. Г. Ткаченко // *Изучение онтогенеза видов природных флор в ботанических учреждениях Евразии*. — 1993. — С. 197–198.
4. Соболевская К. А. Исчезающие растения Сибири в интродукции / К. А. Соболевская. — Новосибирск: Наука, 1984. — 222 с.
5. Ишмуратова М. М. Оценка состояния ценопопуляций *Rhodiola iredelica* (*Grassulaceae*) на Южном Урале / М. М. Ишмуратова // *Растительные ресурсы*. — 2006. — Т. 42, вып. 2. — С. 49–55.
6. Прокудин Ю. Н. Злаки Украины / Ю. Н. Прокудин, А. Г. Вовк, О. А. Петрова, Е. Д. Ермоленко, Ю. В. Верниченко. — К.: Наукова думка, 1977. — 517 с.

Надійшла 07.11.2014.

UDC 631.527.01:633.2

Buhaiov V. V. Institute of feeds and agriculture of Podillya NAAS**Kindruk M. O.** Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

FEATURES OF SEED GERMINATION IN RARE SPECIES OF PERENNIAL CEREAL GRASSES

Research results have established that the different nature of seed germination of some species of cereal grasses. Freshly harvested seeds of *Elytrigia intermedia* (Host) Nevski the laboratory germination are growing steadily during the first months of its life. For seeds of *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., chaff gage and other kinds is inherent undulating fluctuations of this indicator when it reaches the maximum value in June and August and at least — in February — April. For seeds of *Elytrigia intermedia* (Host) Nevski is characteristic the curvilinear type of oscillation similarity in the absence of synchronization by years.

УДК 631.527.01:633.2

Бугайов В. В., Киндрук Н. А.

ОСОБЕННОСТИ ПРОИЗРАСТАНИЯ СЕМЯН МАЛОРАСПРОСТРАНЕННЫХ ВИДОВ МНОГОЛЕТНИХ ЗЛАКОВЫХ ТРАВ

Результаты исследований свидетельствуют о разном характере произрастания семян некоторых видов многолетних злаковых трав. В свежееубранных семенах пырея среднего увеличение лабораторной всхожести наступает в первые месяцы хранения. Другим видам свойственна «пульсация» этого показателя в период послеуборочного дозревания, особенно для житняка гребенчатого и костреца тонколистного, которые в диком виде встречаются редко.

Сезонные колебания всхожести семян проявляются лишь у житняка гребенчатого, у которого она достигает максимума в июне–августе, а минимума — в феврале–апреле.

Полученные результаты следует учитывать в семеноводческой практике, в первую очередь при семенном контроле лабораторной всхожести семян малораспространенных видов злаковых трав.

**Вимоги до оформлення статей
до «Збірника наукових праць Селекційно-генетичного
інституту — Національного центру насіннєзнавства
та сортовивчення»**

1. Статті до «Збірника...» подаються у 2 примірниках та в електронній версії (Word) українською, або російською, або англійською мовами. До статей українською чи російською мовами додається переклад тексту (з відповідними складовими — анотація, резюме тощо) англійською для розміщення на веб-сайті інституту.

Обсяг статті — до 12 друкованих сторінок.

2. Форма подання: формат А-4; шрифт Arial, розмір 12, інтервал 1,5. Поля: верхнє, нижнє, лівє, правє — 2,0 см.

3. Порядок розташування елементів оформлення сторінки, згори до-низу:

- 2 інтервали;
 - УДК (великими літерами);
 - 1 інтервал;
 - прізвище, ініціали автора (авторів) (великими літерами), його (їх-ній) науковий ступінь, вчене звання, академічне звання, посада (скорочено); електронна адреса;
 - назва установи;
 - 1 інтервал;
 - назва статті (великими літерами, жирним шрифтом);
 - 1 інтервал;
 - анотація мовою написання статті (курсив);
 - 1 інтервал;
 - ключові слова (курсив);
 - 1 інтервал;
 - текст статті;
 - 2 інтервали;
- список літератури в порядку цитування за стандартом наведення бібліографічних даних;
- резюме українською, англійською, російською мовами після бібліографії з коротким викладом результатів досліджень.

4. Стаття містить вступ, опис матеріалів та методів досліджень, обговорення результатів, висновки.

5. Таблиці та рисунки мають бути пронумеровані і вмонтовані в текст з обов'язковим посиланням на них. Підписи до рисунків друкуються під ними, до таблиць — над ними.

6. Літературні джерела подаються в тексті в порядку посилання на них цифрами у квадратних дужках.

7. До матеріалів додається довідка про автора (авторів) із зазначенням місця роботи, посади, наукового ступеня, вченого звання, номерів телефону, факсу, електронної пошти.

8. До статті додаються рекомендація вченої ради установи, де працює автор, та рецензія на статтю від фахівця у даній галузі.

9. Статті, які не відповідатимуть означеним вимогам, прийматись не будуть.

Друкується за рішенням вченої ради
Селекційно-генетичного інституту —
Національного центру
насіннезнавства та сортовивчення
(протокол № 11 від 19.12.2014 р.)

Збірник внесено до переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук з галузей сільськогосподарських (генетика, селекція рослин, насінництво) та біологічних (генетика) наук.

Постанова президії ВАК України від 16 грудня 2009 р. № 1–05/6

Свідоцтво про державну реєстрацію
друкованого засобу масової інформації
Серія KB № 9531 від 18.01.2005 року

Відповідальні за випуск: В. Я. Крижанівський, М. Г. Музикант

Тираж 100 прим. Зам. № 160 (148).

Адреса редакції:
Селекційно-генетичний інститут —
Національний центр насіннезнавства та сортовивчення,
65036, м. Одеса, Овідіопольська дорога, 3.
Тел. (048) 789-54-01, факс (048) 789-52-89
e-mail: sgi-uaan@ukr.net, www.sgi.in.ua

Друкарня видавництва «Астропринт»
65091, м. Одеса, вул. Разумовська, 21
Тел.: (0482) 37-07-95, 37-14-25, 33-07-17, (048) 7-855-855
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1373 від 28.05.2003 р.

