

РОЗШИРЕННЯ РІЗНОМАНІТТЯ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЇ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ

М.М. Назаренко

*Миронівський інститут пшениці імені В.М. Ремесла НААН України,
сел. Центральне 2/2, Миронівський р-н, Київська обл.*

З використанням мутагенів вдалося значно розширити біорізноманіття вихідного матеріалу для селекції пшениці м'якої озимої. Отримані перспективні джерела за ознаками короткостебловості, ранньостиглості, змін у формі та кольорі колоса, продуктивності, вмісту білка. Встановленні частоти мутацій за цими ознаками, наведені мутагенні чинники та їх дози, оптимальні для індукції такого типу мутацій. Виділені в якості цінних форм ранньостиглі, ультраранньостигла, напівкарликова, з довгим колосом мутантні лінії. Запропоновані до безпосереднього використання в селекційному процесі 6 мутантних ліній з високими продуктивністю та вмістом білка. Проведений аналіз гліадинів мутантних ліній та наведені формули гліадинів 6 перспективних ліній.

Ключові слова: озима пшениця, мутантна лінія, мутант.

На кінець двадцятого сторіччя в селекційній практиці вдалося створити принципово нові сорти з високою продуктивністю, якістю, адаптивним потенціалом [1, 2]. Проте добір за цими ознаками призвів до суттєвого звуження різноманіття вихідного матеріалу у селекційному процесі [2, 3, 4]. Так, при селекційних схрещуваннях використовують лише невелику частку зародкової плазми озимої пшениці. Це призводить до ряду негативних явищ, які не можна подолати без суттєвого розширення різноманіття вихідного матеріалу [5, 6]. Одним з методів збагачення генофонду є отримання мутацій, використання мутагенів в селекційній практиці [7, 8].

На протязі останніх семидесяти років за допомогою експериментального мутагенезу було створено понад 3000 сортів культурних рослин [9], як прямим добором мутантних рослин, так і використанням їх у селекційних схрещуваннях. 60 % з них створенні після 1985 року [10, 11, 12]. Найбільша кількість мутантних сортів створена в Китаї (26,8 %), Індії (11,5 %), колишньому СРСР та Росії (9,3%), Нідерландах, США, Японії. 1585 (70 %) сортів створені прямим добором мутантних форм, а 667 сортів – з залученням мутантів до гібридизації.

Використання експериментального мутагенезу дозволяє досить ефективно змінити культурну рослину, як для поліпшення окремих ознак, так і для отримання нових ознак, що не мають аналогів серед вже існуючого селекційного матеріалу, або мають окремі негативні якості [13, 14]. Усі ознаки, отримані при індукованому мутагенезі, здебільше мають природні аналоги, але досить часто використання цих аналогів неможливе або надзвичайно складне [15, 16].

На сьогоднішній день основною стратегією експериментального мутагенезу є створення вихідного матеріалу для селекції з поліпшеними агрономічно-цінними ознаками. Це такі ознаки як висота рослин, скоростиглість, форма насіння, стійкість до хвороб, підвищення продуктивності та якості [6, 10, 12].

Успішна реалізація програм зі створення нових сортів озимої пшениці можлива лише при використанні нових джерел генетичного різноманіття, при наявності

відповідного вихідного матеріалу. Саме це склало передумову для наших досліджень з виділення цінних ліній після обробки мутагенами як вихідного матеріалу в подальшому селекційному процесі.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИКА

Мутантний матеріал отриманий у результаті впливу на сухе насіння сортів озимої м'якої пшениці Смуглянка, Одеська 333, MVMatilda, Панна наступних мутагенів: НЕС (нітрозоетилсечовина) - 0,005, 0,01, 0,025, 0,05 %, НМС (нітрозометилсечовина) - 0,001, 0,005, 0,0125, 0,025% і опроміненні гамма-променями в дозах 50, 100, 150, 200 Гр. При класифікації мутантного матеріалу дози були визначені як низькі (НЕС 0,005 %, НМС 0,001 %, гамма-промені 50 Гр.), оптимальні (НЕС 0,01, 0,025 %, НМС 0,005, 0,0125 %, гамма-промені 100, 150 Гр.) і високі (НЕС 0,05 %, НМС 0,025 %, гамма-промені 200 Гр.) [17].

Дослідження з ефективності різних доз і концентрацій хімічних і фізичних мутагенів проводилися аналізом мутацій у M_2 — M_5 сортів озимої пшениці Панна й Смуглянка. Виявляли зміни у фенотипі за фенологічними спостереженнями, устанавлювали спадковий характер цих змін. На підставі досліджень M_4 — M_6 мутантних ліній як константного матеріалу, аналізували продуктивність, якість при дрібноділяночному посіві (ділянка – 10 м², повторність – 1- 3-х-разове). Всього було досліджено у M_2 – M_3 – 11815 сімей, у M_4 – M_6 – 315 мутантних ліній. Стандартами були вихідні форми та сорт Смуглянка.

Досліди проводилися в 2006 - 2010 рр. на базі дослідного сільськогосподарського виробництва Інститута фізіології рослин і генетики НАН України (сmt. Глеваха, Київська обл.), дослідних полях лабораторії генетики Миронівського інституту пшениці НААН України.

Аналіз гліадинів проведений за стандартною методикою [18].

Вірогідність відмінностей по продуктивності, урожайності, якості й частоті та спектру мутацій оцінювалися за критерієм Стюдента й результатами факторного аналізу[19].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Серед отриманих мутантних ліній були виділені форми за наступними селекційно-цінними ознаками: короткостеблість, ранньостиглість, змінений колір колосу (у Панни), змінена форма колосу, продуктивність, вміст білку.

Короткостеблість. Використання генів короткостеблості призвело до виникнення принципово нового типу високоінтенсивних сортів. Джерела короткостеблості, що використовуються у сучасній селекції, як правило, мають у родоводі спонтанні або індуковані мутації.

Виділяли короткостеблі (81 – 95 см.), напівкарликові (65 – 80 см) та карликові (менш за 65 см) мутантні лінії.

В індукції мутацій за висотою рослин більш ефективні низькі дози, крім індукції напівкарликів та карликів – дуже ефективні високі дози гамма-променів та НЕС. При дії НЕС у високих концентраціях та гамма-променів у високих дозах виділено карлики, які не виявлені у варіантах обробок даними чинниками у низьких концентраціях та НМС.

Частота короткостеблх мутантів складає 0,6 – 0,8 %, напівкарликів – 0,2 – 0,4 % (єдине виключення – застосування гамма-променів у дозі 200 Гр – збільшується до 0,96 %), карлики виявлені лише при застосуванні дози гамма-променів 200 Гр. (0,02 %) та НЕС 0,05% (0,018%).

Значно вища частота високостеблових форм (до 1,8 %), але вони не мають практичного значення.

Серед карликових та напівкарликових форм була виділена мутантна лінія 742 (сорт MVMatilda, 0,025 % НЕС) – напівкарлик з високим вмістом білку (15,5 % та продуктивністю на рівні стандарту, але низькою зимостійкістю). Інші форми суттєво поступалися стандарту за продуктивністю.

Ранньостиглість. Серед сортів, що вирощуються в господарстві завжди бажано мати один ранньостиглий сорт для більшої стабільності в отриманні врожаїв (деяке послаблення впливу негативних умов року).

В індукції ранньостиглих мутантів ефективною виявилась НЕС. При аналізі мутантів за строками настання стиглості знаходимо, що більшість ранньостиглих мутацій викликана помірними дозами мутагенів. Особливо виділились дози гамма-променів 100 Гр. та НМС 0,001%.

Частота таких мутацій складає в середньому 0,4 – 0,8 %.

Серед досліджуваних мутантних ліній була виділена ультраранньостигла лінія 724 (Одеська 333, НЕС 0,025 %). Дата колосіння в середньому на 3-4 дні раніше за стандарт ранньостиглості Донський напівкарлик. Але лінія демонструє врожайність нижчу за стандарт та невисокий вміст білка (12,2%). Також було виділено 8 ранньостиглих мутантних ліній, але всі вони за врожайністю поступались стандарту.

Зміни кольору колосу. Особливе значення мають мутації за кольором колосу. В дослідях Г.В.Рискаль [20] звертається увага на індукування червоноколосих мутантів озимої пшениці в варіантах з дією мутагенів у помірних дозах. В нашому випадку стояло інше завдання: індукція білоколосих мутантів у сорту Панна. Основний пріоритет при цьому – зберегти якість на рівні червоноколосої вихідної форми. В індукції білоколосості найбільш ефективною виявилась НЕС, потім гамма-промені. Цікаві за своєю унікальністю червоноколосі безості мутанти. Як правило, вони до того ж характеризуються високорослістю та товстим стеблом, завдяки чому виявились більш стійкими до вилягання, ніж вихідна форма.

Частота виникнення білоколосих мутантів склала 0,2 – 0,6 %. Серед них виділилась мутантна лінія 811 (Панна, НЕС 0,025 %) – білоколосий напівкарлик, за продуктивністю на рівні вихідної форми, але вміст білка склав 12,4 % при 15,0 % у вихідної форми. Інші білоколосі форми за продуктивністю значно поступаються стандарту.

Змінена форма колосу. Зміни у морфології колосу, як правило, безпосередньо пов'язані зі змінами у продуктивності. Спостерігали наступні зміни колосу: безостий, довгий, крупний, рихлий, щільний, скверхедний, спельтоїдний, циліндричний, булавоподібний.

Частота змін складала – 0,2 – 2,2 %. Найбільш ефективно індукувала такі зміни НМС у помірних дозах. Найбільша варіація спостерігалась у мутантних ліній сорту Смуглянка за ознакою довжини колосу. Для мутацій по типу булавоподібного колоса був характерний підвищений вміст білка (на 1,0 – 2,3 %). Виділено 2 лінії (вихідна форма – сорт Смугляка, НЕС, 01%, НЕС, 0,025%) з довгим колосом, що показали високу продуктивність - 614, 616.

Продуктивність та вміст білка. Була проведена оцінка на продуктивність виділених за зміненими ознаками мутантних ліній. Селекційний диференціал та ефект добору обраховано через середню продуктивність усіх мутантних ліній у 2008 році, середню продуктивність ліній, добраних в 2008 році, та їх середню продуктивність в 2009 році.

Лише у мутантів сортів Смуглянка та MVMatilda, як при порівнянні зі стандартом, так і при порівнянні за селекційним диференціалом при доборі між мутантними лініями ясно видно ефективність добору за продуктивністю (табл.2). Ефективність добору та селекційний диференціал розраховувався за стандартною

методикою [21].

Характеристика кращих за продуктивністю та вмістом білка мутантних ліній наведена в таблиці 2.

Таблиця 1

Ефективність добору за продуктивністю M₄ – M₅ мутантних ліній, 2008 -2009 рр.

Мутанти сорту	Ефективність добору, R, ц/га	Селекційний диференціал S, ц/га	Відношення R/S
Смуглянка	5,58	5,07	1,09
MVMatilda	5,5	3,43	1,61
Одеська 333	3,58	4,81	0,74

Таблиця 2

Врожайність ліній та вміст білка за 2007 – 2009 рр.

Лінія	Вихідний сорт, мутагенний фактор, ознака	Середня урожайність, ц/га	Відхилення до вихідного сорту, ц/га	Вміст білка, %
	Смуглянка ст.	89,3	-	13,0
614	Смуглянка, НЕС 0,01%, продуктивна	98,9	+9,6*	12,6
616	Смуглянка, НЕС 0,025%, продуктивна з високим вмістом білка	89,2	-0,1	15,0*
641	Смуглянка 100Гр., напівкарликова	98,5	+9,2*	13,4
682	Смуглянка 100Гр., продуктивна	98,7	+9,4*	13,3
690	Смуглянка НЕС 0,005 %, ранньостигла	97,6	+8,3*	14,4*
671	Смуглянка НЕС 0,005 %, напівкарликова	97,1	+7,8*	13,7
НСР _{0,05}			5,8	1,1

* – різниця зі стандартом достовірна при $t_{0,05}$

Таким чином, було виділено 6 мутантних ліній. Усі вони мали як вихідну форму сорт Смуглянка. Серед мутантів інших вихідних форм не вдалося відібрати лінії з поєднанням високої якості та продуктивності. Мутантні лінії сорту MVMatilda, що мали високу продуктивність та вміст білка відзначили низькою зимостійкістю. Зразки сорту Панна з високим вмістом білка (16,0 – 16,5 % білку) мали низьку продуктивність.

При дослідженні мутантних ліній M₄ – M₆ була виявлена слабка від'ємна кореляція між вмістом білку та продуктивністю, в залежності від групування ліній за вмістом білка. При зниженні вмісту білка за межі 14 % кореляція зникла.

Аналіз структури врожайності ліній наведений в таблиці 3 . Як бачимо, перевага у продуктивності перш за все пояснюється підвищенням маси зерна з рослини.

Аналіз гліадинів. Для встановлення вірогідності мутантних змін та їх ідентифікації був проведений аналіз гліадинів мутантних ліній.

Розподіл алелів гліадинів найбільш перспективних ліній наведений в таблиці 4.

Таблиця 3
Результати структурного аналізу деяких продуктивних мутантних ліній (вихідна форма – сорт Смуглянка) озимої пшениці, 2008 – 2010 рр.

Лінія	Висота рослин, см	Кількість стебел, шт.	Продуктивних стебел, шт.	Довжина головного колосу, см.	Кількість колосків у колосі, шт.	Кількість зерен у колосі, шт.	Маса зерна з колосу, г	Маса зерна з рослини, г	Маса тисячі зерен, г
600ст.	86,82±2,96	4,64±1,03	3,45±0,69	9,15±0,47	16,18±1,08	30,18±5,71	1,46±0,36	3,95±0,99	49,8±0,05
614	80,93±4,70*	4,93±1,27	3,86±0,66	9,93±0,62	16,00±1,36	30,71±3,00	1,44±0,23	4,17±0,88	46,0±0,18*
616	89,15±3,98	3,80±0,70*	3,35±0,49	9,96±0,44*	15,90±1,37	31,85±4,27	1,24±0,31	4,12±0,84	44,3±0,21*
641	88,86±2,35	4,67±1,06	4,00±0,89	8,89±0,37	18,29±1,59*	35,95±5,54*	1,70±0,27	4,98±1,60*	49,8±0,05
671	97,54±4,74*	4,27±0,83*	3,58±0,70	8,94±0,55	15,46±1,45*	35,31±5,74*	1,41±0,35	4,69±0,67	47,0±0,26*
682	84,55±2,30*	4,68±0,89	3,88±0,59*	8,82±0,39	16,91±1,34	36,73±4,51*	1,73±0,19*	5,13±0,91*	46,7±0,10*
690	88,55±3,26*	4,56±0,88	3,85±0,67	8,73±0,79*	17,90±1,37*	30,85±7,19	1,43±0,37	4,33±1,03	46,4±0,10*

* – різниця з контролем достовірною при $t_{0,05}$

Розподіл алелів гліадинів та високомолекулярних глютенів мутантних ліній сорту Смуглянка

Зразок	Формула гліадинуGld					
	1A	1B	1D	6A	6B	6D
Вихідна форма	17	1	1	1	1	1
614, 641	17	1	1	2	1	3
616	17	1	4	2	1	3
671	17	1	1	1	1	1
	17	1	1	2	1	1
682	17	1	2	1	3	1
	17	1	1	1	1	3
690	17	1	2	2	3	1
	17	1	1	1	1	1

Для лінії 616 з високим вмістом білка характерна зміна за 1D з 1 на 4. Цей локус безпосередньо пов'язаний з високою якістю і добре відомий. Усі продуктивні лінії сорту Смуглянка зберегли алель 1A17, що є маркером 1AL/1RS транслокації, яка й обумовлює видатну продуктивність вихідної форми.

ВИСНОВКИ

Таким чином, проведені досліджень мутантних ліній за ознаками короткостебловість, ранньостиглість, змінений колір колосу (у Панні), змінена форма колосу, продуктивність, вміст білка з виявленням частоти появи таких змін та оптимальними дозами для індукції.

Виділені перспективні джерела для розширення біорізноманіття для селекційного процесу (напівкарликові, карликові, ранньостиглі форми, форми з високим вмістом білка та продуктивністю). Виявлено шість перспективних ліній, що можуть бути безпосередньо застосовані у селекційному процесі.

Проведений аналіз гліадинів підтвердив мутаційний характер отриманих змін.

ЛІТЕРАТУРА

1. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агроферы. Теория и практика / А.А. Жученко. – М., 2004. – Т. 1 – 690 с.
2. Лифенко С.П., Литвиненко М.А. Достижения в селекции озимой м'якої пшениці / С.П. Лифенко, М.А. Литвиненко // Вісник аграрної науки. – 2000. – №12. – С. 15 – 16.
3. Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений. Эколого-генетические основы / А.А. Жученко. – М., 2001. – Т.1 – 780 с.
4. Miflin B. Crop improvment in the 21th century. / B. Miflin // J. Exp. Bot. – 2000. – Vol.342, №51. – P. 1 – 8.
5. Ahloowalia B.S. Renaissance in genetics and its impact on plant breeding / B.S. Ahloowalia // Euphytica. – 2001. – Vol.118, № 5 - P.99-102.
6. Muralkey M., Jons M. Isolation and analysis of termotolerance mutant of wheat / M. Muralkey, M. Jons // J. Exp. Bot. – 2000. – Vol. 342, №51 – P. 139 – 146.
7. Моргун В.В., Логвиненко В.Ф. Мутационная селекция пшеницы / В.В. Моргун, В.Ф. Логвиненко. – Киев: Наук. думка, 1995. – 627с.

8. Boyd L.A., Smith P.H., Hart N. Mutants in wheat showing multipathogen resistance to biotrophic fungal pathogens / L.A. Boyd, P.H. Smith, N. Hart // Plant Pathology. — 2006. — Vol.55. — P. 475 — 484.
9. База данных FAO/IAEA по сортам культурных растений полученных с помощью мутагенеза. — FAO, 2006. WEB: <http://www-mvd.iaea.org/MVD/default.htm> 3.
10. Ahloowalia B.S., Maluszynski M. Global impact of mutation-derived varieties / B.S. Ahloowalia, M. Maluszynski // Euphytica. — 2004. - 135, № 2 - P. 187 – 204.
11. Maluszynski K., Nichterlein K., Van Zanten L. Officially released mutant varieties – The FAO/IAEA database / K. Maluszynski, K. Nichterlein, L. Van Zanten // Mutation breeding review. – 2000. - №12 – P. 1 – 84 20
12. Maluszynski M. Major mutation-assisted plant breeding supported by FAO/IAEA. / M. Maluszynski // Euphytica. – 2001. – Vol.119 - P.81-92.
13. Цыганков В.И. Индуцированный мутагенез в селекции яровой мягкой пшеницы на продуктивность и адаптивность к условиям Западного Казахстана / В.И. Цыганков // Достижения науки и техники АПК. – 2001. – № 6. – С. 19 – 22.
14. Rojas-Barros P., de Haro A., Munoz J., Fernandez-Martinez J. M. Isolation of a Natural Mutant in Castor with High Oleic/Low Ricinoleic Acid Content in the Oil / P. Rojas-Barros, A. de Haro, J. Munoz, J. M. Fernandez-Martinez // Crop Sci. – 2004. – Vol. 44, №2 – P. 76–80
15. Лях В.А., Мищенко Л.Ю., Сорока А.И., Полякова И.А. Частота и спектр индуцированных гамма-лучами мутаций у различных генотипов льна масличного / В.А. Лях, Л.Ю. Мищенко, А.И. Сорока, И.А. Полякова // Физиология и биохимия культур. растений . — 2001. — 33, N 5. — С. 414-420.
16. Roberts M. A., Reader S.M., Dalgliesh C. Induction and characterization of Ph1 Wheat mutants / M. A. Roberts, S.M. Reader, C. Dalgliesh // Genetics — 1999. — Vol.153. — P. 1909 — 1918.
17. Назаренко Н.Н. Классификационный анализ мутантного материала / Н.Н. Назаренко // Физиол. и биохим. культ. раст. – 2008. – №1, 40 – С.33–42
18. Brzezinski W., Mendelewski P. Improved PAGE procedure for identification of wheat, triticale, barley and oat cultivars / W. Brzezinski, P. Mendelewski // XII EUCARPIA Congr. (Febr. 28, 1989). Gottingen: Vortrage fur Pflanzenzuchtung. P. 890 – 1989.
19. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц . – М.: Практика. — 1998. – 459 с.
20. Рыскаль Г.В. Роль различных факторов в экспериментальном мутагенезе у пшеницы / Г.В. Рыскаль // Доклады ВАСХНИЛ. – 1989. – № 5. – С. 2 – 5.
21. Симонов В.К., Кильчевский В.С. Биометрическая генетика / В.К. Симонов, В.С. Кильчевский. – М., 1995 – 256 с.

РОСШИРЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ

Н.Н. Назаренко

Мироновский институт пшеницы им. В.М. Ремесло НААН Украины

Благодаря использованиям мутагенов удалось существенно повысить разнообразие исходного материала для селекции пшеницы мягкой озимой. Получены перспективные источники по признакам короткостебельности, раннеспелости, изменений по морфологии колоса, продуктивности, содержанию белка. Установлены частоты мутаций по этим признакам, приведены мутагенные факторы и их дозы оптимальные для индукции такого типа мутаций. Выделены в качестве ценных форм раннеспелые, ультрараннеспелая,

полукарликовая, с длинным колосом мутантные линии. Предложены к непосредственному использованию в селекционном процессе 6 мутантных линий с хорошей продуктивностью и содержанием белка. Проведен анализ глиадинов мутантных линий и приведены формулы глиадинов 6 перспективных линий.

Ключевые слова: озимая пшеница, мутантная линия, мутант.

INCREASING OF DIVERSITY OF SOURCE MATERIAL FOR BREEDING OF BREAD WINTER WHEAT

M.M. Nazarenko

The W.M. Remeslo Myronovka institute of wheat NAAS of Ukraine

Through the use of mutagens the diversity of the source material for breeding of winter wheat has been significantly increased. Perspective sources by the parameters of short stem, earliness, changes in shape and colour of the ear, productivity, protein content have been obtained. The frequency of mutations by these parameters has been developed, mutagenic factors and their optimal dose for the induction of this type of mutation have been defined. Earliness, ultra earliness, semi-dwarf, with long ears mutant lines have been developed as valuable. Six mutant lines with good productivity and protein content have been proposed for immediate use to breeding process. Mutant lines have been analysed by gliadins and gliadins formula of six promising lines has been showed.

Key words: winter wheat, mutant lines, mutant.