

<sup>1</sup>Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН,  
Украина, 65036 Одесса, Овидиопольская дорога, 3, [schebotar@yahoo.com](mailto:schebotar@yahoo.com)

<sup>2</sup>Селекционно-генетический институт УААН,  
Украина, 65036 Одесса, Овидиопольская дорога, 3

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОРТОВ-АНАЛОГОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ВЫСОТЕ РАСТЕНИЙ, С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ К ГЕНАМ КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ

**Введение.** Сорта-аналоги мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) были созданы в СГИ (Одесса) Хангильдиным В.В. в 1990-х годах на основе скрещивания сортов Кооператорка, Одесская 3, Одесская 51, Степняк с сортом Одесская полукарликовая и 6-7 беккросов с рекуррентными родителями. Данные сорта-аналоги и их родительские формы имеют достоверные различия в высоте растений: Кооператорка (137-152 см) – Кооператорка К-90 (90-115 см) и Коператорка К-70 (55-75 см); Одесская 3 (126-136 см) – Одесская 3 К-75 (86-89 см); Одесская 51 (106-110 см) – Одесская 51 К-73 (99-102 см); Степняк (120-124 см) – Степняк-2К (102-105 см) и Одесская полукарликовая (61-87 см), в качестве контроля использовались сорта Альбатрос (93-108 см) и Краснодарский карлик 1 (68-94 см).

Гены короткостебельности или карликовости (*Rht*) контролируют высоту растений и обуславливают различный клеточный ответ на эндогенный растительный гормон гиббереллин (Keyes and Paolillo 1989). Гены *Rht-B1b* (ранее *Rht1*) и *Rht-D1b* (ранее *Rht2*) локализованные на гомеологичных хромосомах 4BS и 4DS являются гиббереллин-нечувствительными генами короткостебельности. Ген *Rht-8* чувствительный к действию гибберелловой кислоты и сцеплен с микросателлитным локусом *Xgwm261* на хромосоме 2DS на расстоянии 0,2 сМ (Korzun et al., 1998). Перечисленные гены эффективно понижают высоту растений и широко используются в селекционных программах в мире и в Украине.

До настоящего времени дебатировались вопросы эффектов аллелей генов короткостебельности на морозостойкость и зимостойкость сортов мягкой пшеницы (Лыфенко и др., 1980; Litvinenko, 1998).

Классическим генетическим материалом для исследования эффектов аллелей генов на морфо-физиологические признаки растений – являются близко-изогенные и рекомбинантно-инбредные линии, создание которых требует проведения 7-10 беккросов для первых и 6-7 самоопылений растений F<sub>2</sub> для вторых. Изучаемый в нашей работе генетический материал, создан в результате 6-7 беккросов и может быть отнесен скорее к сортам аналогам, чем к близко-изогенным или конгенным линиям. Однако, считаем, что использование такого рода генетического материала позволит оценить эффекты аллелей генов короткостебельности на хозяйственно-ценные признаки, в том числе и на морозостойкость.

Целью данного исследования было охарактеризовать набор сортов-аналогов по высоте растений, определить аллельный состав генов короткостебельности *Rht8*, *Rht-B1*, *Rht-D1* в их генотипах.

Генетически охарактеризованный материал планируется использовать для изучения влияния различных аллелей генов коростебельности, а также комплекса *Rht*-генов на агрономические признаки пшеницы.

**Материалы и методы.** Сорта-аналоги и отцовская форма Одесская полукарликовая были исследованы при помощи ПЦР-анализа с использованием аллеле-специфичных праймеров к локусам *Rht-B1*, *Rht-D1*, разработанных Ellis et al. (2002), а также диагностического микросателлитного маркера *Xgwm261* к гену *Rht8*, как рекомендовано Kozun et al. (1998). ДНК выделяли из этиолированных проростков пшеницы по стандартной методике (Сиволап и др., 1998). Продукты амплификации фракционировали в 10 % денатурирующем полиакриламидном геле, содержащем 8М мочевины. Тестирование чувствительности проростков к действию гибберелловой кислоты проводили по методике описанной Börner et al. (1987).

**Результаты и обсуждение.** У сортов-аналогов Кооператорка К-90 и Кооператорка К-70, созданных на основе сорта Кооператорка, детектировали *Rht8c* аллель, как и в отцовском сорте Одесская полукарликовая. Исходный рекуррентный сорт Кооператорка характеризовался *Rht8a* аллелем, так же как и сорт Одесская 3. Микросателлитный анализ с праймерами к локусу *Xgwm261* выявил аллель *Rht8c* в сортах Одесская 51, Альбатрос, Краснодарский карлик 1, а так же в сортах-аналогах Одесская 51 К-73 и Степняк-2К, в рекуррентном сорте Степняк детектировали аллель - 214 п.н.

Тест на чувствительность к гибберелловой кислоте показал, что Кооператорка К-70, Одесская 3 К-75, Одесская 51 К-73, Степняк-2К, Одесская полукарликовая, Краснодарский карлик 1, Альбатрос нечувствительны к гибберелловой кислоте.

Аллеле-специфичной ПЦР с праймерами к *Rht-D1* (4D) и *Rht-B1* (4B) генам выявили, что *Rht-B1b* аллель представлен в генотипе сорта-аналога Одесская 3 К-75, аллель *Rht-D1b* – в генотипах Степняк-2К и Одесской 51 К-73. Наличие данного аллеля, вероятно, можно объяснить перекрестным опылением с сортом Альбатрос или другими сортами, несущими *Rht-D1b* аллель. На большую степень спонтанной гибридизации сортов, короткостебельного типа с высоко- либо среднерослыми сортами указывал Боридченко (1988).

Нами установлено, что сорт Кооператорка отличается от своего аналога Кооператорки К-90 по одному гену короткостебельности *Rht-8c*, а от аналога Кооператорки К-70 по двум генам *Rht-8c* и *Rht-B1e*, последний с аллеле-специфичными праймерами не тестировался, но проростки этого сорта-аналога обнаруживали нечувствительность к гибберелловой кислоте, что с учетом родословной аналога, свидетельствует о присутствии *Rht-B1e* аллеля у данного генотипа. Сорта-аналоги Одесская 3 и Одесская 3 К-75 различаются по двум генам, так в генотипе Одесской 3 не присутствует ни один из тестируемых генов короткостебельности, данный сорт характеризуется аллелями дикого типа *Rht8a*, *Rht-B1a* и *Rht-D1a*, а у генотипа Одесская 3 К-75 нами детектированы аллели, определяющие короткостебельность *Rht8c* и *Rht-B1b*. Одесская 51 характеризуется аллелями *Rht8c*, *Rht-B1a* и *Rht-D1a*, а ее аналог Одесская 51 К-73 имеет один дополнительный ген короткостебельности *Rht-D1b*. Сходное аллельное состояние по тестируемым генам короткостебельности показано для сорта-аналога Степняк-2К. При этом не обнаружено достоверных различий по разнице средних высоты растений между данными сортами (Одесская 51 К-73 и Степняк-2К).

Исследованные сорта-аналоги будут тестированы на морозостойкость, хотя, по предварительным данным, зимостойкость сортов-аналогов была на уровне исходных рекуррентных родительских форм в годы с мягкими зимами. Будет оцениваться также влияние генов короткостебельности на продуктивность главного колоса, выровняемость стеблестоя, количество зерен с подгонов, массы зерна с подгонов и др.

**Выводы.** В результате проведенных исследований идентифицированы аллели генов короткостебельности в наборе сортов-аналогов: Кооператорка – Кооператорка К-90 и

Коператорка К-70; Одесская 3 – Одесская 3 К-75; Одесская 51 – Одесская 51 К-73; Степняк – Степняк-2К.

### Литература

1. Боридченко Ю.А. Причины сортового засорения короткостебельных сортов озимой мягкой пшеницы // Научно-технический бюллетень ВСГИ – 1988. - №3 (69). – С. 4 – 8.
2. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях. Научно-методическое руководство. Под ред. Ю.М. Сиволапа. – Киев: Аграрна наука, 1998. – 156 с.
3. Лыфенко С.Ф., Ериняк Н.И., Федченко В.П. Связь признака высоты стебля озимой пшеницы с морозостойкостью // НТБ ВСГИ. – 1980. – №1 (35). – С. 6 – 9.
4. Börner A., Lehmann C.O., Mettin D. Preliminary results of screening for GA<sub>3</sub> response in wheats of the Gatersleben gene bank // Kulturpflanze. – 1987. – Vol. 35. – P. 179 – 186.
5. Ellis M.H., Spielmeier W., Gale K.R., Rebetzke G.J., Richards R.A. “Perfect” markers for the Rht-B1b and Rht-D1b dwarfing genes in wheat // Theor. Appl. Genet. – 2002. – Vol. 105. P.1038 – 1042.
6. Keyes G.J., Paolillo D.J., Sorrells M.E. The effects of dwarfing genes Rht1 and Rht2 on cellular dimensions and rate of leaf elongation in wheat // Annals of Botany. – 1989. – Vol. 64. – P. 683 – 690.
7. Korzun V., Röder M.S., Ganai M.W., Worland A.J., Law C.N. Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht 8*) in wheat. Part I. Molecular mapping of *Rht8* on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. – 1998. – Vol. 96. – P. 1104 – 1109.
8. Litvinenko N.A. Breeding intensive winter bread wheat varieties for Southern Ukraine // Euphytica. – 1998. – Vol. 100. – P. 7-14.

**Резюме.** За допомогою ПЛР-аналізу з алеле-специфічними праймерами та тесту на чутливість паростків до гіберелової кислоти визначили алельний стан генів *Rht8*, *Rht-B1* та *Rht-D1* у генотипах сортів-аналогів, що достовірно відрізняються за висотою рослин: Кооператорка – Кооператорка К-90 і Кооператорка К-70; Одесская 3 – Одесская 3 К-75; Одесская 51 – Одесская 51 К-73; Степняк – Степняк-2К.

**Резюме.** С помощью ПЦР-анализа и теста на чувствительность проростков к гибберелловой кислоте определили аллельное состояние генов короткостебельности *Rht8*, *Rht-B1* и *Rht-D1* в генотипах сортов-аналогов, достоверно различающихся по высоте растений: Кооператорка – Кооператорка К-90 и Кооператорка К-70; Одесская 3 – Одесская 3 К-75; Одесская 51 – Одесская 51 К-73; Степняк – Степняк-2К.

**Abstracts.** Allele characteristics of *Rht8*, *Rht-B1*, *Rht-D1* – dwarfing genes have been detected by using of PCR-analysis with allele specific primers and test for gibberelic acid for wheat analog-varieties, that have significant differences in plant height: Kooperatorka – Kooperatorka K-90 and Kooperatorka K-70; Odesskaya 3 – Odesskaya 3 K-75; Odesskaya 51 – Odesskaya 51 K-73; Stepnyak – Stepnyak 2K.