

УДК 576:606:631.1

М. С. БОЙКО<sup>1</sup>, асп., інж.,

Г. О. ЧЕБОТАР<sup>2</sup>, к. б. н., доц.,

І. І. МОЦНИЙ<sup>1</sup>, к. б. н., ст. наук. співроб.,

О. Л. ШЕСТОПАЛ<sup>1</sup>, к. б. н., ст. наук. співроб.,

С. В. ЧЕБОТАР<sup>1,2</sup>, д. б. н., пров. наук. співроб., ст. наук. співроб., чл.-кор.  
НААН, зав. каф.

<sup>1</sup>СГІ–НЦНС, Одеса,

<sup>2</sup>ОНУ ім. І. І. Мечникова, Одеса

e-mail: karadras2@yandex.ru

## **ОСОБЛИВОСТІ АНДРОГЕНЕЗУ У ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ОДЕСЬКА 51 З АЛЕЛЕМ *Rht-B1e* КОРОТКОСТЕБЛОВОСТІ**

*Розглянуто особливості андрогенезу in vitro у ліній пшениці м'якої озимої Одеська 51 та її короткостеблових аналогів різного ступеня насичування (BC<sub>6-8</sub>). Дослідили вплив алельних відмінностей (*Rht-B1e* vs *Rht-B1a*) за локусом *Rht-B1* та ступеня відновлення генетичного фону рекурентної форми на гаплопродукційну спроможність мікроспор. На генетичному фоні сорту Одеська 51 алель *Rht-B1e* достовірно негативно впливав на показник «індукція новоутворень». Частота індукції була набагато вищою у генотипів з алелем *Rht-B1a*. Ступінь відновлення генетичного фону не мав істотного значення для варіації ознаки. Залежності показника «регенерація зелених рослин» від досліджених чинників (алельних відмінностей та ступеня відновлення генетичного фону) не виявлено.*

Ключові слова: пшениця м'яка озима, андрогенез *in vitro*, короткостебловість, алель *Rht-B1e*, індукція новоутворень, регенерація рослин.

**Вступ.** Пшениця м'яка озима є найважливішою зерновою культурою в Україні. Вона займає великі посівні площі та має вагоме економічне значення як з точки зору кормовиробництва, так і для забезпечення харчування людини потрібною кількістю калорій та дефіцитного білка [1]. Тому надзвичайно важливою є робота зі створення нових сортів і ліній пшениці з оптимальними комбінаціями цінних ознак. Андрогенез *in vitro* — один з ефективних методів, що дозволяє швидко отримати гомозиготний матеріал. Але здатність до андрогенезу тісно пов'язана з генотипом і тому може мати значні відмінності у різних ліній пшениці. Цікавим для дослідження є взаємозв'язок показників ефективності біотехнологічного процесу, зокрема з наявністю у генотипі рослин тих чи інших генів короткостебловості (*Rht*).

Результати сучасних досліджень [2] дозволили зробити висновок, що гени короткостебловості пшениці відіграють суттєву роль в регулюванні процесів дедиференціації, проліферації, вторинної диференціації клітин та регенерації рослин. Гени *Rht* впливають на ріст і морфогенез калюсу [3]. Виявлено, що напрямок і сила впливу різних алелів, які належать до однієї генетичної системи і навіть до одного локусу, можуть значно різнитися. Як відомо [4], у м'якої пшениці на хромосомі 4В знаходяться гени, робота яких регулює утворення ембріоїдів. Ген *Rht-B1* — один із головних генів, що визначає висоту рослин пшениці, локалізований в короткому плечі саме цієї хромосоми [5]. Його алель *Rht-B1c* спричиняє погіршення ініціації і пасування калюсу, як і здатність до регенерації [6]. Проте, за даними інших авторів, він має позитивний вплив на більшість показників андрогенезу *in vitro*, а також соматичного ембріогенезу *in vitro* у м'якої пшениці [7].

Алель *Rht-B1e* зумовлює короткостебловість рослини, суттєво (на 30–40 %) вкорочуючи довжину міжвузловин [8] завдяки зниженню чутливості вегетативних та репродуктивних тканин до ендогенної гіберелової кислоти [9]. Це виявляється у зменшенні клітин майже всіх вегетативних органів [10] і супроводжується зниженням довжини колеоптиля та зменшенням площі листа. Щодо молекулярної структури, то в нуклеотидній послідовності алеля *Rht-B1e* присутня мутація (однонуклеотидна заміна А на Т), яка призводить до утворення стоп-кодона TAG з кодона AAG в 61 положенні, що на три кодони раніше за стоп-кодон, який зумовлюється мутацією *Rht-B1b* [11].

Характеризується означений алель також низкою плейотропних ефектів. В умовах посухи наявність алеля *Rht-B1e* на генетичному фоні сорту Одеська 51 призводила до вірогідного зменшення ознак, що характеризують розвиток і продуктивність головного колоса (кількість колосків та зерен у колосі, маса зерна з колоса, озерненість колоска, щільність колоса), кількості та маси зерен з рослини, а також маси тисячі зерен за незначного збільшення продуктивної кущистості та кількості зерен з підгонів [12; 13]. І навпаки, за сприятливих умов достатнього вологозабезпечення алель *Rht-B1e* забезпечував суттєве підвищення врожайності; короткостеблові лінії характеризувалися високою продуктивністю (на 7–50 % вищою, ніж рекурентна форма), стійкістю до вилягання, прийнятною морозостійкістю, але були занадто низькорослі (72–78 см) і сприйнятливі до хвороб [14; 15]. Підвищення урожайності здійснювалося, головним чином, за рахунок збільшення числа зерен у колосі і його елементів нижчих рівнів ієрархії (число колосків у колосі й озерненість колоска), що призвело до зростання продуктивності колоса (маси зерна з колоса) на 6–20 %. Однак автори одноставно зауважують істотне зниження основних показників якості: седиментації, сили борошна, вмісту клейковини тощо [14–16]. Вплив алеля на результативність культури пшениць *in vitro* не вивчався.

Отже, дослідження впливу різних генів системи *Rht*, зокрема різних алелів гена *Rht-B1*, на андрогенез *in vitro* є цікавим та важливим завданням з точки зору як прикладної генетики пшениці, так і біотехнології. Це дозволяє прогнозувати ймовірну ефективність культивування *in vitro* рослинних тканин на основі відомих особливостей генотипів сортів донорних рослин, що вводяться в культуру.

**Мета та задачі.** Метою роботи було визначення впливу різних алелів гена *Rht-B1* на перебіг процесу андрогенезу *in vitro*. Для досягнення цієї мети були поставлені наступні задачі: 1) провести ПЛР-аналіз для ідентифікації в генотипі досліджуваних ліній певних алелів гена *Rht-B1*; 2) визначити різницю між рекурентною формою та аналогами різного ступеня насичування за показниками гаплопродукції.

**Матеріали та методи.** Досліджували лінію пшениці м'якої озимої Одеська 51 (в подальшому Од.51) та три її короткостеблові аналоги (Од.51<sub>e</sub>B<sub>6</sub>, Од.51<sub>e</sub>B<sub>7</sub>, Од.51<sub>e</sub>B<sub>8</sub>) різного ступеня насичування (відповідно BC<sub>6</sub>, BC<sub>7</sub> і BC<sub>8</sub>). В генотип аналогів *Rht-B1e* привнесений від сорту-донора ознаки — Одеська напівкарликова (ОНК). Сорти-аналоги створені у відділі загальної та молекулярної генетики СГІ–НЦНС шляхом схрещення (Од.51×ОНК)×Од.51<sup>6–8</sup>F<sub>∞</sub>. Всі досліджувані зразки — це чисті лінії, створені методом індивідуального добору. Теоретично у випадку безперервного насичування рівень відновлення генетичного фону рекурентного батька у них має складати 99,2, 99,6 і 99,8 % відповідно. Однак мікросателітний аналіз виявив лише 88,9 % подібності між аналогом Од.51<sub>e</sub>B<sub>6</sub> та рекурентною лінією Од.51 [17], а дискримінантний аналіз — значну відмінність між ними за комплексом кількісних ознак (крім висоти рослин), тому насичування було продовжено до BC<sub>8</sub>. Оскільки за комплексом ознак відмінності між BC<sub>7</sub> і BC<sub>8</sub> виявилися несуттєвими, було висловлено припущення про достатню кількість насичувань (BC<sub>8</sub>) для створення майже ізогенної лінії [18].

Вилучали ДНК застосуванням буфера зі СТАВ, алель-специфічної ПЛР, електрофорезу у поліакриамідному гелі (ПААГ), фрагмент-аналізу на ALF-express генетичному аналізаторі, як це детально описано [17]. Алель *Rht-B1e* визначали за алель-специфічною ПЛР з двома парами праймерів («MR3», «BF» та «WR3», «BF»), розробленими в 2011 році [11] (рис. 1).

Для вивчення здатності до андрогенезу рослини вирощували в полі. Добирали колосся донорних рослин з пиляками, мікроспори яких знаходилися у середньопізній вакуолізованій стадії розвитку. Попередньо обробляли матеріал і стерилізували його за загальноприйнятою методикою [19]. Ізольовані пиляки висаджували на середовище 190–2 для індукції новоутворень [20] в модифікації [21]. Висаджені пиляки культивували перші три доби при температурі 30 °С, надалі — при 24 °С до появи новоутворень. Сформовані макроструктури культивували на модифікованому середовищі MS за 16-годинного фотоперіоду. Отримані зелені регенеранти пересаджували на безгормональне середовище MS і яровизували [19].

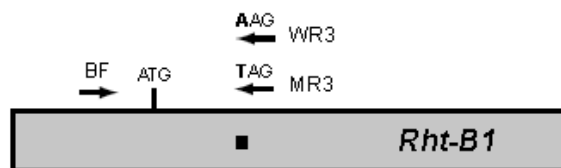


Рис. 1. Схема розташування праймерів до *Rht-B1e* алеля на нуклеотидній послідовності згідно з [11]

Гаплопродукційну здатність оцінювали за кількістю новоутворень на 100 висаджених пиляків і кількістю рослин-регенерантів на 100 отриманих новоутворень. Крім того, для визначення впливу вищезначених чинників застосовували метод дисперсійного аналізу [22]. Статистично обробили отримані дані у програмі STATISTICA 8.

**Результати та обговорення.** Проведена ПЛР на матриці геномної ДНК з використанням комбінації праймерів «WR3» та «BF» до алеля *Rht-B1a*, що характеризується продуктом ампліфікації розміром 228 п. н. При наявності алеля *Rht-B1e* в генотипі з цією парою праймерів продуктів ампліфікації не виявлено. У результаті ПЛР з використанням праймерів «MR3» та «BF» при наявності в генотипі алеля *Rht-B1e* детектуються фрагменти ампліфікації розміром 228 п. н. (рис. 2).

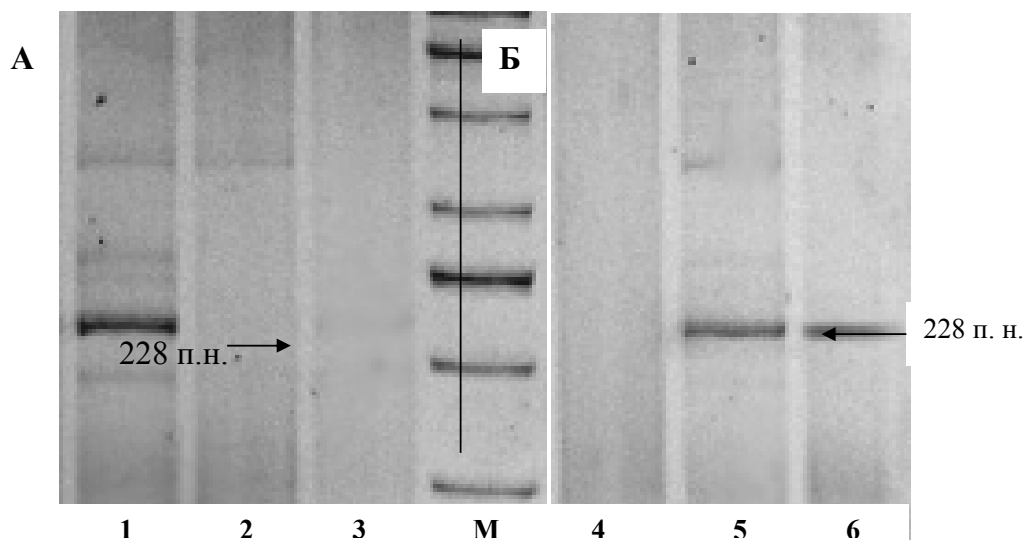


Рис. 2. Електрофоретичний розподіл у 7 % ПААГ продуктів ампліфікації, отриманих за ПЛР з ДНК ліній-аналогів застосуванням алель-специфічних праймерів: А — WR3+BF до алеля *Rht-B1a* та Б — MR3+BF до алеля *Rht-B1e*. На доріжках гелю: 1 — Од.51 (*Rht-B1a*); 2 — Од.51<sub>е</sub>В<sub>6</sub>; 3 — ОНК; М — маркер молекулярної маси GeneRuler 50bp; 4 — Од.51 (*Rht-B1a*); 5 — Од.51<sub>е</sub>В<sub>6</sub>; 6 — ОНК

При цьому слід зазначити, що продукти ампліфікації для генотипів з *Rht-B1a* або *Rht-B1b* алелями з цією парою праймерів («MR3» та «BF») не виявляються.

Отже, у лінії Од.51<sub>e</sub>B<sub>6</sub>, як можна бачити з рисунка 2, детектовано алель *Rht-B1e* від сорту ОНК — донора короткостебловості, на відміну від Од.51, у якої визначено *Rht-B1a*.

Оцінювали вплив алелів (*Rht-B1e* vs *Rht-B1a*) та кількості насичувань рекурентною формою на гаплопродукційну спроможність рослин. Визначали рівень індукції новоутворень і регенерації зелених рослин (табл. 1).

Таблиця 1

Показники успішності першого та другого етапів андрогенезу *in vitro*

Лінія	Алель локусу <i>Rht-B1</i>	Кількість пиляків	Новоутворення		Зелені регенеранти	
			шт.	шт./100 пиляків	шт.	шт./100 новоутворень
Од.51	а	1288	35	2,72 ± 0,45	15	42,86 ± 8,36
Од.51 <sub>e</sub> B <sub>6</sub>	е	873	5	0,57 ± 0,26	0	0,00 ± 12,37*
Од.51 <sub>e</sub> B <sub>7</sub>	е	796	7	0,88 ± 0,33	1	14,29 ± 13,23
Од.51 <sub>e</sub> B <sub>8</sub>	е	1115	6	0,54 ± 0,22	0	0,00 ± 11,02*

\* для нульових значень похибка відсотка підраховувалась за формулою Ван-Дер-Вардена [23].

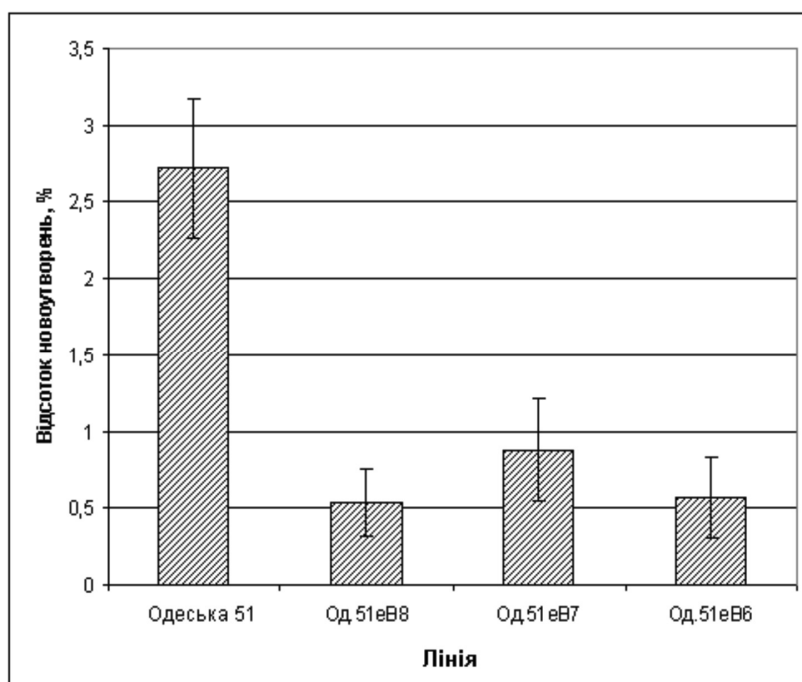


Рис. 3. Частота індукції новоутворень у досліджених ліній

На етапі індукції новоутворень відмінності між генотипами, що відрізнялися за вищезазначеними алелями, виявлялися дуже чітко (рис. 3). Найвищі показники індукції новоутворень були отримані для середньорослих рослин лінії Од.51 з генотипом *Rht-B1a*. Відсоток новоутворень помітно перевищував показники всіх інших ліній з генотипом *Rht-B1e*.

Для оцінки вірогідності впливу факторів генотипу та ступеня відновлення генетичного фону рекурентної лінії на рівень індукції новоутворень використовували дисперсійний аналіз. Дані однофакторного дисперсійного аналізу показали, що алель *Rht-B1e* достовірно впливає на кількість новоутворень (табл. 2). В той час як відмінності між лініями Од.51<sub>e</sub>В<sub>6</sub>, Од.51<sub>e</sub>В<sub>7</sub> і Од.51<sub>e</sub>В<sub>8</sub> виявилися невірогідними ( $F=1,1$ ;  $p>0,05$ ).

Таблиця 2

Результати однофакторного дисперсійного аналізу впливу генотипу (алельних відмінностей за локусом *Rht-B1*) на відсоток новоутворень

Джерело варіації	df (ступінь свободи)	SS (сума квадратів)	MS (середній квадрат)	F (відношення Фішера)	p (рівень значимості для обчисленого F)
Генотип	1	3,164	3,164	89,7*	0,011
Похибка	2	0,071	0,035		
Всього	3	3,235			

\* — значення достовірне.

Отже, об'єднавши результати першого етапу андрогенезу *in vitro*, одержані на короткостеблових аналогах різного ступеня насичування з однаковим генотипом, можна заключити, що при введенні в генотип рослини алеля *Rht-B1e* індукція новоутворень значно знижується (рис. 4). Очевидно, це можна вважати плейотропним ефектом означеного алеля. Проте, виходячи з результатів нашого попереднього дослідження [24], слід зазначити, що даний ефект істотно залежить від генофону. Так, хоча на генетичному фоні Од.51 результати чинного дослідження відповідають отриманим у вищезгаданому досліді даним [24], короткостебловий аналог сорту Кооператорка з алелем *Rht-B1e*, як і сорт-донор ОНК, показали у вищезгаданому досліді високу частоту новоутворень на першому етапі андрогенезу *in vitro*, перевершивши рекурентну лінію з генотипом *Rht-B1a*. Означене може зумовлюватись присутністю інших сильних генів з позитивним впливом на ознаку, що перекриває негативний ефект алеля *Rht-B1e*, наявністю взаємодії або виникненням доміnantних інгібіторів устанавленого ефекту в результаті мутації.

Чіткої залежності кількості рослин-регенерантів (від числа новоутворень) від алельного стану за локусом *Rht-B1* або від ступеня відновлення генетичного фону рекурентної форми не було виявлено (табл. 1, рис. 5, 6). Хоча тенденція до зростання цього показника у рекурентної лінії (*Rht-B1a*) виявляється чітко. Можливо, це пов'язано з незначним відсотком одержання таких рослин. Зелені рослини були отримані не для всіх форм. Так, новоутворення з пиляків аналогів Од.51eВ<sub>6</sub> та Од.51eВ<sub>8</sub> не дали ні зелених, ні навіть альбіно регенерантів. Регенеранти з пиляків аналога Од.51eВ<sub>7</sub> виявилися стерильними. Лише подвоєні гаплоїди з сорту Одеська 51 дали насіння. Отримана лінія була передана у відділ загальної та молекулярної генетики СГІ–НЦНС.

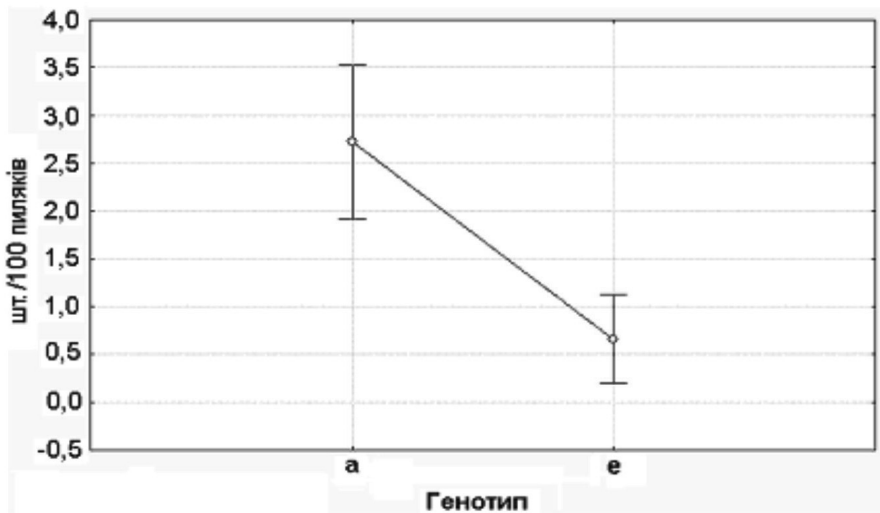


Рис. 4. Вплив генотипу на кількість новоутворень (а — сорт Од.51 (*Rht-B1a*), е — короткостеблові аналоги (*Rht-B1e*), сумарно). Середнє значення  $\pm$  95 % довірчий інтервал

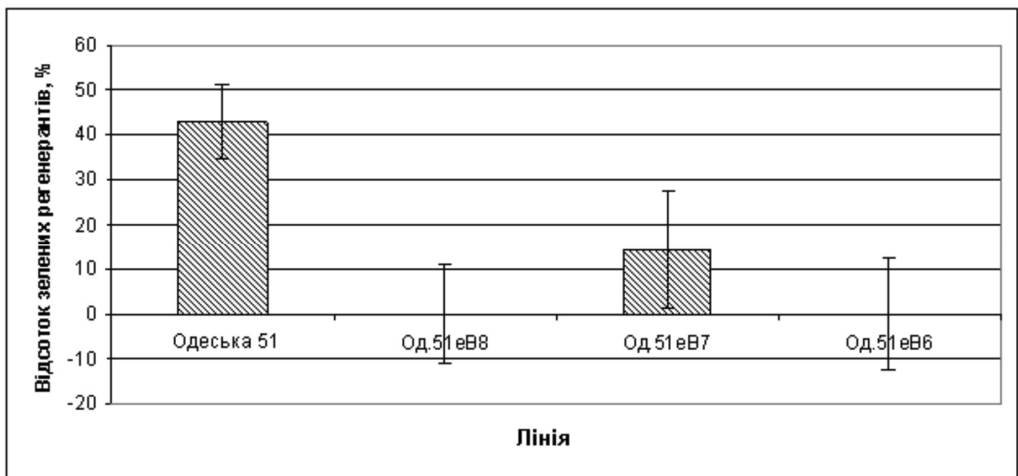


Рис. 5. Другий етап андрогенезу *in vitro* (одержання зелених рослин-регенерантів) у досліджених ліній

### Висновки.

1. За ПЛР-аналізом у генотипі досліджуваних ліній були виявлені різні алелі гена *Rht-B1*. У лінії, виділеної з сорту Одеська 51, визначено алель *Rht-B1a*, а у лінії Од.51<sub>e</sub>В<sub>6</sub>, Од.51<sub>e</sub>В<sub>7</sub>, Од.51<sub>e</sub>В<sub>8</sub> ідентифіковано алель *Rht-B1e* від сорту Одеська напівкарликова.

2. Короткостеблові аналоги лінії Одеська 51, які мають алель *Rht-B1e*, суттєво поступаються зазначеній рекурентній лінії (алель *Rht-B1a*) за кількістю новоутворень. Зазначене можна вважати плейотропним ефектом означеного алеля, який, однак, має здатність суттєво модифікуватись генетичними чинниками того чи іншого генетичного фону.

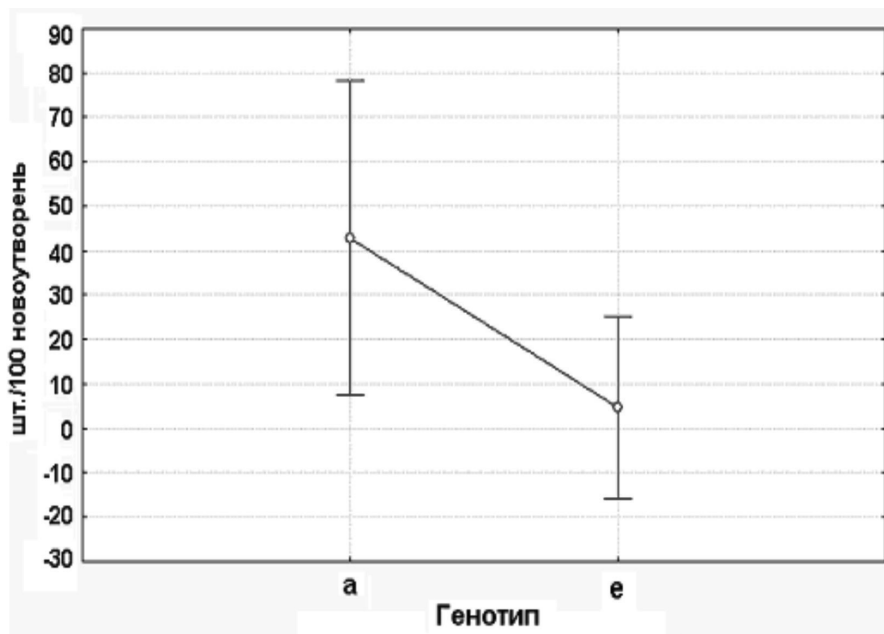


Рис. 6. Вплив генотипу на процент зелених рослин-регенерантів (а — сорт Од.51 (*Rht-B1a*), е — короткостеблові аналоги (*Rht-B1e*), сумарно). Середнє значення  $\pm$  95 % довірчий інтервал

3. Чіткого впливу генотипу лінії та ступеня відновлення генетичного фону рекурентної форми на показник «кількість зелених рослин-регенерантів» від кількості новоутворень не виявлено.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Gupta P. K. Wheat genomics: Present status and future prospects / P. K. Gupta, R. R. Mir, A. Mohan [et al.] // Int. J. Pl. Genomics. — 2008. — Vol. 2008. — P. 1–36.
2. Костина Е. Е. Эффекты генов короткостебельности пшеницы и подсолнечника на культивирование тканей *in vitro* / Е. Е. Костина, О. В. Ткаченко, Ю. В. Лобачев // Биология — наука XXI века: материалы Международной конференции. — М.: МАКС Пресс, 2012. — С. 406–408.
3. Mathias R. J. *In vitro* expression of genes affecting whole plant phenotype — the effect of *Rht/Gai* alleles on the callus culture response of wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) / R. J. Mathias, E. Atkinson // Theor. Appl. Genet. — 1988. — Vol. 75, № 3. — P. 474–479.
4. Torp A. M. Genetic markers for haploid formation in wheat anther culture / A. M. Torp, A. L. Hansen, J. B. Holme [et al.] // Proc 9<sup>th</sup> Int. Wheat Genet. Symp. Saskatoon (Saskatchewan, Canada). — 1998. — Vol. 3: Poster presentation. — P. 159–161.
5. McIntosh R. A. Catalogue of gene symbols for wheat [Електронний ресурс] / R. A. McIntosh, Y. Yamazaki, J. Dubcovsky [et al.] // Proc. 12th Int. Wheat Genet. Symp. Yokohama, Japan, 8–13 September 2013 / KOMUGI, Wheat Genetic Resources Database. — Режим доступу: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp>



6. Омелянчук Н. А. Использование изогенных линий для изучения каллусообразования и регенерации / Н. А. Омелянчук, А. В. Гвоздев // Использование изогенных линий в селекционно-генетических экспериментах: тез. докл. I Всесоюзн. совещ. — Новосибирск: ИЦИГ, 1990. — С. 96–98.
7. Djatchouk T. I. The effect of *Rht* alleles on the wheat anther culture / T. I. Djatchouk, O. V. Tkachenko, Yu. V. Lobachev // Ann. Wheat Newsletter. — 1999. — Vol. 45. — P. 123.
8. Чеботар Г. О. Алелі генів короткостебловості *Rht8*, *Rht-B1*, *Rht-D1*, нечутливості до фотоперіоду *Ppd-D1* м'якої пшениці та їх ефекти на агрономічні ознаки: дис. ... к. б. н. 03.00.15 — генетика. — Одеса: СГІ–НЦНС, 2012. — 185 с.
9. Keyes G. J. The effects of dwarfing genes *Rht1* and *Rht2* on cellular dimensions and rate of leaf elongation in wheat / G. J. Keyes, D. J. Paolillo, M. E. Sorrells // Ann. Bot. — 1989. — Vol. 64. — P. 683–690.
10. Miralles D. J. Dwarfing genes and cell dimensions in different organs of wheat / D. J. Miralles, D. F. Calderini, K. P. Pomar [et al.] // Journal of Experimental Botany. — 1998. — Vol. 49. — P. 1119–1127.
11. Pearce S. Molecular characterisation of *Rht-1* dwarfing genes in hexaploid wheat (*Triticum aestivum*) / S. Pearce, R. Saville, S. P. Vaughan [et al.] // Plant Physiology. — 2011. — Vol. 157, № 4. — P. 1820–1831.
12. Чеботар Г. О. Вплив алелів генів короткостебловості та гена *Ppd-D1* на агрономічні ознаки м'якої пшениці / Г. О. Чеботар, І. І. Моцний, С. В. Чеботар [та ін.] // Зб. наук. праць СГІ–НЦНС. — Одеса, 2010. — Вип. 16 (56). — С. 148–160.
13. Чеботар Г. О. Порівняння ефектів *Rht*-генів за комплексом біологічних та агрономічних ознак пшениці в широко- і вузькорядному посівах / Г. О. Чеботар, С. В. Чеботар, І. І. Моцний [та ін.] // Збірник наукових праць СГІ–НЦНС. — Одеса, 2013. — Вип. 22 (62). — С. 74–88.
14. Абакуменко А. В. Результаты использования конвергентных скрещиваний в селекции озимой пшеницы / А. В. Абакуменко // Научн.-техн. бюл. СГИ. — Одесса, 1992. — № 1 (81). — С. 4–10.
15. Хангильдин В. В. Оценка короткостебельного аналога линии сорта озимой пшеницы Одесская 51 по компонентам урожая и мукомольно-хлебопекарным качествам / В. В. Хангильдин // Научн.-техн. бюл. ВСГИ. — Одесса, 1990. — № 3 (77). — С. 19–22.
16. Пучков Ю. М. Селекция полукарликовых сортов озимой пшеницы на продуктивность и качество зерна / Ю. М. Пучков, Л. А. Беспалова, Е. Н. Ли // Селекция и генетика пшеницы: сб. науч. работ. — Краснодар, 1985. — С. 3–10.
17. Чеботарь Г. А. Молекулярно-генетический анализ линий-аналогов мягкой пшеницы, различающихся по высоте растений / Г. А. Чеботарь, С. В. Чеботарь, И. И. Моцный [и др.] // Вісник Одеського національного університету. — Сер.: Біологія. — 2009. — Т. 14, вип. 8. — С. 61–71.
18. Моцний І. І. Дискримінація за кількісними ознаками короткостеблових аналогів м'якої пшениці в залежності від ступеня відновлення генофону рекурентного сорту / І. І. Моцний, Г. О. Чеботар, С. В. Чеботар, М. П. Кульбіда // Вісник Одеського національного університету. Сер.: Біологія. — 2013. — Т. 18, вип. 1 (39). — С. 37–45.

19. Ігнатова С. О. Отримання подвоєних гаплоїдів м'якої пшениці в культурі пиляків: методичні рекомендації / С. О. Ігнатова, М. В. Жосонар, О. Л. Шестопал [та ін.] / Півден. біотехнолог. центр в рослин-ві УААН. — Одеса, 2008. — 12 с.
20. Zhuang J. J. Increasing differentiation frequencies in wheat pollen callus / J. J. Zhuang, J. Xu // Cell and tissue culture techniques for cereal crop improvement. — Beijing: Science Press, 1983. — P. 431.
21. Лобанова К. І. Шляхи реалізації регенераційного потенціалу в культурі пиляків у різних генотипів озимої м'якої пшениці / К. І. Лобанова, М. В. Жосонар, С. О. Ігнатова // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. — 2006. — Т. 4, № 1. — С. 52–57.
22. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1973. — 336 с.
23. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — 3-е изд., испр. — Минск: Высшая школа, 1973. — 320 с.
24. Замбриборщ И. С. Отзывчивость линий гексаплоидной пшеницы с *Rht* генами к андрогенезу и влияние условий получения удвоенных гаплоидов на полевые характеристики регенерантов / И. С. Замбриборщ, А. А. Добрава, Е. И. Лобанова [и др.] // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры: междунар. конф., посв. 80-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси, 19–22 июня 2012 г.: материалы. — Минск, 2012. — Ч. 2. — С. 303–307.

Надійшла 02.11.2016

UDC 576:606:631.1

**Boyko M. S.<sup>1</sup>, Chebotar G. O.<sup>2</sup>, Motsny I. I.<sup>1</sup>, Shestopal O. L.<sup>1</sup>, Chebotar S. V.<sup>1,2</sup>** <sup>1</sup>Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations, <sup>2</sup>I. I. Mechnikov Odesa National University

### **INVESTIGATION OF ANDROGENESIS FEATURES IN BREAD WINTER WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) LINES ODESKA 51 WITH *Rht-B1e* ALLELE**

The androgenesis ability in anther culture of soft winter wheat variety Odesskaya 51 and its three short stem analogues (Od.51<sub>e</sub>B<sub>6</sub>, Od.51<sub>e</sub>B<sub>7</sub>, Od.51<sub>e</sub>B<sub>8</sub>) with different level of saturation (BC<sub>6</sub>, BC<sub>7</sub> and BC<sub>8</sub> appropriately) was analyzed. The PCR-analysis was carried out. In the genotype of line, which was picked out from variety Odesskaya 51, *Rht-B1a* allele was determined, and in the analogue lines — *Rht-B1e* allele. The influence of allele differences (*Rht-B1e* vs. *Rht-B1a*) by *Rht-B1* locus and the level of genetic background restoration on haploproductive ability of microspores was considered. The highest index «induction of tumors» was obtained for plants of medium height with *Rht-B1a* genotype. It is revealed, that in case of introduction of *Rht-B1e* allele induction of tumors noticeably decreasing. Thus, the *Rht-B1e* allele on Odesskaya 51 genetics background has a negative influence on index «induc-

tion of tumors». The differences between Od.51<sub>e</sub>B<sub>6</sub>, Od.51<sub>e</sub>B<sub>7</sub> and Od.51<sub>e</sub>B<sub>8</sub> lines are unreliable, so, the level of restoration wasn't important for the index variation. Statistically significant dependence of green plants regeneration on allelic state by *Rht-B1* locus or level of genetics background restoration of the recurrent form hasn't been found. The doubled haploides from Odesskaya 51 variety produced seed, which was delivered to the General and Molecular Genetics department of PBGI-NCSCI.

УДК 576:606:631.1

**Бойко М. С.**<sup>1</sup>, **Чеботарь Г. А.**<sup>2</sup>, **Моцный И. И.**<sup>1</sup>, **Шестопад О. Л.**<sup>1</sup>, **Чеботарь С. В.**<sup>1,2</sup> <sup>1</sup>Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноведения и сортоизучения, <sup>2</sup>Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова

### **ОСОБЕННОСТИ АНДРОГЕНЕЗА У ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ОДЕССКАЯ 51 С АЛЛЕЛЕМ *Rht-B1e* КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ**

Анализировали способность к андрогенезу в культуре пыльников пшеницы мягкой озимой сорта Одесская 51 и трех ее короткостебельных аналогов (Од.51<sub>e</sub>B<sub>6</sub>, Од.51<sub>e</sub>B<sub>7</sub>, Од.51<sub>e</sub>B<sub>8</sub>) разной степени насыщения (соответственно ВС<sub>6</sub>, ВС<sub>7</sub> и ВС<sub>8</sub>). Проведен ПЦР-анализ, с помощью которого в генотипе линии, выделенной из сорта Одесская 51, определен аллель *Rht-B1a*, а у линий-аналогов — аллель *Rht-B1e*. Изучено влияние аллельных различий (*Rht-B1e* vs. *Rht-B1a*) по локусу *Rht-B1* и степени восстановления генетического фона рекуррентной формы на гаплопродукционную способность микроспор. Самые высокие показатели индукции новообразований получены для среднерослых растений линии Од.51 с генотипом *Rht-B1a*. При введении в генотип растения аллеля *Rht-B1e* индукция новообразований значительно снижалась. Таким образом, на генетическом фоне сорта Одесская 51 аллель *Rht-B1e* негативно влияет на показатель индукции новообразований. Различия же между линиями Од.51<sub>e</sub>B<sub>6</sub>, Од.51<sub>e</sub>B<sub>7</sub> и Од.51<sub>e</sub>B<sub>8</sub> оказались недостоверными, следовательно, степень восстановления генетического фона не имеет существенного значения для вариации признака. Статистически значимой зависимости количества растений-регенерантов от аллельного состояния по локусу *Rht-B1* или от степени восстановления генетического фона рекуррентной формы не установлено. Удвоенные гаплоиды сорта Одесская 51 дали семена, которые были переданы в отдел общей и молекулярной генетики СГІ–НЦСС.