

УДК 633.11:575.116
© 2013

І.І. Моцний,
кандидат
біологічних наук

Г.О. Чеботар

В.І. Файт,

доктор
біологічних наук

С.В. Чеботар,
член-кореспондент НААН

О.О. Погребнюк

Селекційно-генетичний
інститут — Національний
центр насіннєзнавства
та сортовивчення

М.П. Кульбіда

ДУ «Інститут
очних хвороб і тканинної
терапії ім. В.П. Філатова
АМН України»

У сучасних умовах мінливого клімату в зоні Причорноморського степу України особливої значимості набуває напрям селекції на відновлення степового агроекотипу сучасних сортів пшениці. Адаптивний потенціал видатного в минулому сорту Степняк селекції СГІ — НЦНС (автори Ф.Г. Кириченко та ін.) використано далеко не повністю. Сорт характеризується суто степовим екотипом, високою стійкістю до абіотичних (посуха та мороз) і біотичних (бура та жовта іржа, борошнеста роса, тверда та пильна сажка) чинників середовища, невибагливістю до агротехніки, особливо після гірших непарових попередників (стерні, кукурудзи), та пристосованістю до мінливих умов зони ризикованого землеробства [1]. Серед недоліків сорту — високорослість, пізньостиглість, схильність до вилягання і деяких хвороб. Також істотним недоліком для селекції є багатолінійність сорту. З огляду на це застосування маркер-контрольованої селекції із використанням методів молекулярної генетики дає змогу оцінити спектр мінливості матеріалу й отримати константні лінії значно швидше, ніж традиційними методами [11, 12]. Використання в селекції пшениці алель-специфічних і мікросателітних ДНК-маркерів за принципами «marker assisted backcrossing», «marker-assisted recurrent selec-

ДИСКРИМІНАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗА БІОЛОГІЧНИМИ Й АГРОНОМІЧНИМИ ОЗНАКАМИ ЛІНІЙ СОРТУ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ СТЕПНЯК

Ідентифіковано інформативні ознаки для дискримінації 4-х ліній сорту пшениці м'якої Степняк між собою та щодо батьківських форм вихідного сорту — сортів Одеська 16 і Безоста 1. Охарактеризовано прояв низки біологічних і агрономічних ознак цих ліній порівняно з сучасними сортами.

Ключові слова: пшениця, інформативні, біологічні й агрономічні ознаки, генотип.

tion», «genome wide selection» прискорює пошук і оцінювання рекомбінантних генотипів, підвищує надійність добору бажаних форм за менших обсягів популяції та відсутності селективних агрофонів [10, 11, 13].

Гомозиготні лінії, виділені з сорту Степняк за допомогою маркер-контрольованої селекції, можна позбавити окремих недоліків, тоді вони перевищуватимуть батьківські форми і матимуть селекційне значення. Для аналізу мінливості відібраних генотипів за комплексом кількісних ознак, які мають полігенну детермінацію, високу екологічну дисперсію і сильно корелюють між собою, доцільно застосовувати дискримінантний аналіз.

Мета досліджень — визначити за кількісними ознаками відмінність і селекційну цінність 4-х ліній, відібраних за допомогою молекулярних маркерів до генів *Rht8* та *Ppd-D1*, виділених з сорту пшениці м'якої Степняк, оцінити інформативність комплексу кількісних ознак для дискримінації ліній порівняно з вихідними формами.

Матеріали і методи досліджень. Матеріалом для дослідження були виділені за допомогою маркер-контрольованої селекції з гетерогенного за морфологічними ознаками сорту Степняк чисті лінії: Степняк 1 (Ст. 1), Степняк 2

(Ст. 2), Степняк 3 (Ст. 3) та Степняк 4 (Ст. 4), які різняться за наявністю/відсутністю остей та алелями генів *Rht8* і *Ppd-D1*: Ст. 1 — безостий, *Rht8a Ppd-D1b*; Ст. 2 — остистий, *Rht8x Ppd-D1a*; Ст. 3 — безостий, *Rht8c Ppd-D1a*; Ст. 4 — остистий, *Rht8c Ppd-D1a* [7, 8]. Контролем за широкорядної сівби був батьківський компонент сорту Степняк — сорт Одеська 16 (Од. 16), точніше одна з його ліній (*Rht8xPpd-D1b*), виділена В.В. Хангільдіним і підтримується у відділі генетики СГП—НЦНС та сорт Безоста 1 (Б1), материнський компонент сорту Степняк — донор генів *Rht8c* і *Ppd-D1a*. За вузькорядної сівби стандартами були сучасні високопродуктивні сорти СГП — НЦНС Антонівка (Ан) і Куяльник (Ку) (*Rht8c Ppd-D1a*) [7].

Дослід закладали після чорного пару єдиним блоком у 3-х повторях. Насіння сіяли в оптимальні строки ручною саджалкою (2009–2011 рр.) на 2-рядкових ділянках завдовжки 1 м з площею живлення окремої рослини 30×10 см² або сівалкою ССФК-7 (2011–2012 рр.) на ділянках 3 м² з розрахунку по 500 схожих зерен на 1 м². Агротехніка типова для півдня України. Морозостійкість оцінювали на стадії паростків за температури –13°С та у фазі куціння рослин при –16°С [3]. В останньому випадку в І декаді січня і І декаді березня 2011 і 2012 рр. добирали в полі по 75–90 рослин кожного генотипу. Під час вегетації, збирання та обмолоту рослин визначали ознаки: «висота рослин» (ВР); «довжина стебла» (h); «дата колосіння» (ДК); «маса 1000 зерен» (МТЗ); «продуктивне куціння» (ПК) — кількість продуктивних колосків на рослину та за ярусами — 1-м (ПК₁), 2- (ПК₂) і 3-м (ПК₃), відповідно; «кількість зерен з підгонів» (ЗП) і з рослини (ЗР); «маса зерен з підгонів» (МЗП) та з рослини (МЗР); «довжина колоса» (l); «кількість колосків у колосі» (ККК); «кількість стерильних (крайніх, недорозвиннутих) колосків у колосі» (КСК); «кількість зерен у колосі» (ЗК); «кількість зерен у колоску» (ЗКк); «маса зерна з колоса» (МЗК); «кількість продуктивних пагонів на одиницю площі» (КПП); «урожай зерна з ділянки» (УЗ). Седиментацію SDS30°K визначали в цілозміленому зерні (шроті) у відділі генетичних основ селекції СГП — НЦНС за оригінальною методикою, розробленою з урахуванням стійкості клейковинного комплексу до протеолітичних ферментів борошна [4, 9].

Для оцінки спорідненості ліній та їх розміщення в координатах батьківських форм, визначених у багатовимірному просторі комплек-

су досліджених ознак, а також для визначення інформативності кожної з них виконували покрокову процедуру лінійного дискримінантного аналізу із включенням (Forward stepwise) [6]. Досліджено статистичні характеристики: F-критерій Фішера — оцінка інформативності ознаки для розрізнення ліній; часткова λ Уїлкса — оцінка внеску ознаки у дискримінацію ліній; R^2 — коефіцієнт детермінації ознаки (частка дисперсії ознаки, що пояснюється сукупною варіацією інших ознак); корені дискримінантної функції; D^2_M — квадрат відстані Махаланобіса між центроїдами комплексів кількісних ознак досліджених ліній. Різницю між середніми значеннями біологічних та агрономічних ознак оцінювали методом дисперсійного аналізу за $HP_{0,05}$ [2].

Результати й обговорення. Варіація ознак за роками не впливала на загальну ситуацію стосовно їх інформативності та спорідненості сестринських ліній, тому дані за 2009–2011 рр. було підсумовано й об'єднано в один масив. З метою об'єктивізації аналізу вибрано максимально незалежні ознаки нижчих ступенів ієрархії і не залучено ознаки, одержані з інших ознак способом обчислень разом з усіма їх складниками. Оскільки варіювання висоти рослини зумовлене алельним станом ліній за генами короткостебловості, ознака «довжина стебла» (h), природно, була найінформативнішою для розрізнення ліній (табл. 1).

Наступною ознакою, за якою виділені лінії найбільше розрізняються між собою та відрізняються від батьків, виявилась кількість крайніх (як правило нижніх) недорозвиннутих стерильних колосків (КСК). Інші інформативні ознаки, які розрізняють (дискримінують) означені сукупності — це характеристики головного колоса (l, ККК, ЗКк.); найменш інформативні — складники продуктивної куцистості (ПК₁, ПК₂, ПК₃), а також МЗК та ЗП (див. табл. 1). Лінії зовсім не розрізнялися за МЗП. Висока корелятивність ознак зумовила акумуляцію більшої частини (90,1%) сукупної варіації у двох перших дискримінантних функціях. Водночас перша дискримінантна функція, яка акумулює 78,6% варіації, формується, головним чином, ознаками h, l і КСК, що сильно позитивно корелюють між собою. Отже, високорослі рослини мають довший колос, в якому виявляється більше недорозвиннутих колосків.

Усі виділені лінії вірогідно відрізняються від батьківських сортів (табл. 2, рисунок). Проте ці відмінності значною мірою залежать від гено-

1. Інформативні ознаки для розрізнення ліній в умовах широкорядної сівби

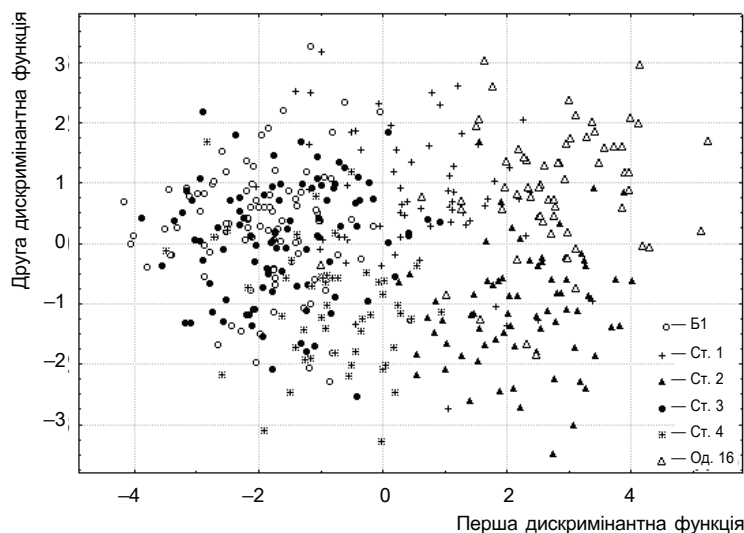
Ознака	F	Часткова λ Уїлкса	R^2	Корінь дискримінантної функції				
				1	2	3	4	5
ПК ₁	5,3***	0,94	0,51	0,15	0,24	0,52	-0,45	-0,50
ПК ₂	2,9*	0,97	0,77	0,18	0,25	0,29	-0,76	0,19
ПК ₃	2,5*	0,97	0,60	0,08	0,26	0,18	-0,51	0,21
h	89,8***	0,48	0,21	0,88	-0,22	-0,34	-0,37	0,10
l	37,4***	0,69	0,63	0,73	0,77	-0,21	1,18	-0,04
ККК	10,6***	0,89	0,51	-0,38	0,31	0,14	-0,76	-0,01
КСК	51,3***	0,62	0,33	0,79	0,16	0,68	0,14	-0,01
МЗК	5,9***	0,93	0,71	-0,45	0,32	0,24	-0,42	0,06
ЗКк	11,4***	0,88	0,63	0,25	-0,75	0,61	0,27	0,08
ЗП	4,5***	0,95	0,95	-0,37	-1,35	-0,72	1,00	0,49

Примітка. У таблиці наведено лише вірогідні ознаки; * значення вірогідні за $P=0,05$; ** $P=0,01$; *** $P=0,001$.

2. Матриця квадратів відстані Махаланобіса (D^2_M) між центроїдами комплексів кількісних ознак досліджених ліній

Лінії	Ст. 1	Ст. 2	Ст. 3	Ст. 4	Од. 16
Б1	8,2	20,1	1,4	4,3	21,7
Ст. 1		7,0	6,1	6,6	7,2
Ст. 2			16,5	10,9	5,1
Ст. 3				2,1	20,1
Ст. 4					17,5

Примітка. Усі значення вірогідні за $P=0,001$.



Діаграма розсіювання рослин загальної сукупності ($n=439$) у просторі перших двох дискримінантних функцій

3. Середні значення біологічних і агрономічних ознак ліній сорту Степняк та стандартів (2011–2012 рр.)

Ознака	Ст. 1	Ст. 2	Ст. 3	Ст. 4	Ан**	Ку**	НІР _{0,05}
Морозостійкість, % живих рослин							
Куціння:							
січень 2011; –16°C	46	51	77	70	85	72	29
березень 2011; –16°C	94	51	84	83	88	77	26
» 2012; –13°C	93	84	91	89	99	100	3
Паростки	70	68	33	74	46	74	4
ДК, діб*	17,8	14,5	15,3	15,2	14,3	13,3	0,7
ВР, см	97	95	91	87	72	75	5
ПК, шт.	1,9	1,8	2,3	1,9	1,3	1,4	0,6
КПП, шт./м ²	634	636	593	603	423	439	111
МЗК, г	0,88	0,75	0,96	1,02	1,50	1,32	0,47
Седиментація SDS30°K, мл	56,7	64,7	62,0	62,7	–	71,3	5,6
УЗ, кг/м ²							
Середнє	0,50	0,42	0,52	0,47	0,51	0,52	0,05
2011 р.	0,43	0,40	0,43	0,42	0,48	0,53	0,09
2012 р.	0,57	0,43	0,61	0,52	0,53	0,52	0,05

* Відлік від 1 травня; ** Ан — Антонівка; Ку — Куяльник.

типу лінії. За метрикою Махаланобіса у просторі інформативних ознак лінія Ст. 3 найбільше наближена до материнського компонента Б1, а лінія Ст. 4 — менше. Водночас обидві лінії ідентичні сорту Б1 за алелями генів *Rht8* і *Ppd-D1*, хоча різниця між ними високовірогідна ($P=0,001$). Високорослі лінії Ст. 1 і, особливо, Ст. 2 розташовані ближче до Од. 16. При цьому лінія Ст. 1 приблизно однаковою мірою віддалена від усіх інших досліджених ліній (табл. 2).

Генотип ліній вірогідно впливав на формування біологічних і агрономічних ознак за вузькорядної сівби (табл. 3). Так, дослідні лінії (за винятком Ст. 4) за морозостійкістю паростків майже не розрізнялися між собою (68–74%) і не відрізнялися від сорту Куяльник (74%), але перевищували сорт Антонівка (46%). Лінія Ст. 3 (33%) за морозостійкістю на цій фазі розвитку істотно поступалася навіть сорту Антонівка. За проморожування рослин, дібраних з поля в середині січня 2011 р. у фазі куціння, всі лінії за морозостійкістю (46–77%) поступалися сорту Куяльник (85%). Морозостійкість ліній Ст. 3 та Ст. 4 становила 77 і 70%, відповідно, що близько до показників сорту Антонівка (72%). Лінії Ст. 1 (46%) і Ст. 2 (51%) поступалися за цією ознакою й сорту Антонівка. Водночас за проморожування на початку березня 2011 р. дослідні лінії (за винятком Ст. 2) виявили високу морозостійкість на рівні сорту Куяльник, а

високоросла лінія Ст. 1 (94%) навіть його перевищувала. Аналогічне ранжування ліній за морозостійкістю спостерігали і в березні 2012 р. за температури –13°C.

У середньому за 2 роки (2011–2012) лінії Ст. 2, Ст. 3, Ст. 4 виколошувалися на 14,5–15,3 доби з початку травня, що на 0,2–1 та 1,2–2 доби пізніше дат колосіння стандартів. Лінія Ст. 1 колосилася на 2,5–4,5 доби пізніше інших ліній і стандартів, що зумовлено наявністю в її генотипі рецесивного алеля *Ppd-D1b*, супротив інших ліній та стандартів з доміантним алелем *Ppd-D1a* [7], який сприяє прискоренню колосіння на 3–4 доби в умовах природного скороченого дня на широті м. Одеси [5].

Наявність *Rht8c* та *Ppd-D1a* алелів сприяла вірогідному зниженню ВР ліній Ст. 3 і Ст. 4 на 4–10 см порівняно з лініями носіями алелів *Rht8a* та *Ppd-D1b* (Ст. 1) або *Rht8x* та *Ppd-D1a* (Ст. 2). Різниця між останніми двома генотипами недостовірною (близько 2 см), за більшої ВР лінії Ст. 1. Усі виділені лінії істотно перевищували за цією ознакою сорти-стандарту Куяльник (75 см) і Антонівка (72 см), у генотипах яких разом з алелем *Rht8c* є ефективніший ген короткостебловості *Rht-D1b* [7].

У середньому за 2 роки (2011–2012) лінії Ст. 3 (0,52 кг/м²) і Ст. 1 (0,50 кг/м²) формували УЗ на однаковому рівні, а Ст. 4 — дещо менше (0,47 кг/м²) відносно сортів-стандартів Ан-

тонівка (0,51 кг/м²) і Куяльник (0,52 кг/м²). Лінія Ст. 2 (0,42 кг/м²) істотно поступалася стандартам. Лінія Ст. 3 вірогідно перевищила обидва стандарти (за $HP_{0,05}$) у сприятливішому 2012 р., але поступилася сорту Куяльник у 2011 р. Урожайність ліній Ст. 1 і Ст. 4 також істотно варіювала залежно від умов року, але в 2012 р. обидві лінії поступалися лінії Ст. 3 і вірогідно не відрізнялися від стандартів. Лінія Ст. 2 була найменш продуктивною в обидва роки. Досягнутий рівень УЗ у дослідних ліній зумовлений

більшою КПП (593–636 шт./м²), ніж у стандартів (423–439 шт./м²), очевидно, завдяки ПК, здатність до якого взагалі притаманна сортам степового еко типу [1]. Проте сучасні сорти мали набагато вищі значення МЗК (1,32 і 1,50 г) порівняно з лініями сорту Степняк (0,75–1,02 г). За експресним показником генетично зумовленого рівня якості борошна (седиментацією SDS30'K) виділені лінії вірогідно не розрізнялися між собою і поступалися високоякісному сорту Куяльник (див. табл. 3).

Висновки

Дослідженнями встановлено, що виділені методом маркер-контрольованої селекції із сорту Степняк лінії вірогідно відрізняються від батьківських сортів, і характер цих відмінностей значно залежить від їхнього генотипу. Серед досліджених ознак вирізняються лінії, розташовані ближче до батьківського (сорт Одеська 16) — Степняк 2 та до материнського (сорт Безоста 1) компонента — Степняк 3. Найінформативнішими ознаками

для дискримінації виділених ліній виявились довжина соломини та колоса, кількість стерильних колосків. Лінія Степняк 3 має високі показники агрономічних ознак і в сприятливі роки може конкурувати з кращими сучасними сортами пшениці озимої. Лінія Степняк 1 характеризується високою морозостійкістю, а лінія Степняк 2 — рекомбінантним, порівняно з поширеними у виробництві сортами, генотипом *Rht8xPpd-D1a*.

Бібліографія

1. *Выращивание* высоких урожаев новых сортов озимой мягкой пшеницы Чайка и Степняк/Ф.Г. Кириченко, А.Ф. Герзов, А.В. Нефедов и др. — О., ВСГИ, 1984. — 20 с. (метод. рекоменд.).
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1979. — 416 с.
3. *Методологічні* принципи оцінки озимої пшениці на терморезистентність в умовах півдня України/П.О. Феоктістов, С.В. Гаврилов, А.К. Ляшок та ін. — К.: Вид. центр НАУ, 2006. — 36 с. (метод. рекомендації).
4. Рибалка О.І., Червоніс М.В., Топораш І.Г. та ін. Наукове обґрунтування розробки нових методів оцінки хлібопекарської якості борошна пшениці/Хранение и переработка зерна. — 2006. — № 1 (79). — С. 43–48.
5. Файт В.И., Федорова В.Р. Влияние различных генотипов *Ppd* на адаптацию и урожай в условиях юга степи Украины/Цитология и генетика. — 2007. — Т. 41, № 6. — С. 26–33.
6. Фукунага К. Введение в статистическую теорию распознавания образов. — М.: Наука, 1979. — 368 с.
7. 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: автореф. дис. на здобуття наук. ступ. канд. біол. наук: 03.00.15/СП — НЦНС. — О., 2012. — 20 с.
8. Чеботарь Г.А., Моцный И.И., Чеботарь С.В. и др. Прямые эффекты генотипов короткостебельности на генетическом фоне известных сортов пшеницы юга Украины/Цитология и генетика. — 2012. — Т. 46, № 6. — С. 44–52.
9. Червоніс М.В. Удосконалення системи методів визначення якості зерна озимої м'якої пшениці в процесі селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступ. канд. с.-г. наук: 06.01.05/СП — НЦНС. — Одеса, 2004. — 16 с.
10. Gupta P.K., Kumar J., Mir R.R. et al. Marker assisted selection as a component of conventional plant breeding//Plant Breed. Rev. — 2010. — V. 33. — P. 145–217.
11. Gupta P.K., Varshney R.K. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat//Euphytica. — 2000. — V. 113. — P. 163–185.
12. Gupta P.K., Varshney R.K., Sharma P.C. et al. Molecular markers and their applications in wheat breeding//Plant Breeding. — 1999. — V. 118. — P. 369–390.
13. Mir R.R., Zaman-Allah M., Sreenivasulu N. et al. Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops//Theor. Appl. Genet. — 2012. — V. 125. — P. 625–645.

Надійшла 04.03.2013.