

УДК 633.12:633.173:631.531.1

О.Л. Яцишен, кандидат сільськогосподарськи наук

Л.К. Тараненко, доктор біологічних наук

ННЦ «ІНСТИТУТ ЗЕМЛЕРОВСТВА НААН»

ЕВОЛЮЦІЙНІ МУТАЦІЇ В СЕЛЕКЦІЇ ГРЕЧКИ НА АДАПТИВНІСТЬ

Вид гречки звичайної *Fagopyrum esculentum* Moench. у фітоценозі мало конкурентоздатний порівняно з іншими зерновими культурами через специфічну архітектоніку рослин, пов'язану з високим рівнем топологічного та хронологічного розчленування.

З огляду на це перед селекціонерами гречки стоїть завдання вдосконалення її геному, в тому числі з використанням мутацій, одержаних у процесі еволюції; цінних рекомбінантів – нащадків гібридів, одержаних у результаті використання різних методів рекомбіногенезу за внутрішньо- та міжвидової гібридизації, а також процесу розчленування популяції після інбридингу й виділення нових перспективних форм.

Генетичне різноманіття генофонду поки що невелике, а прогрес селекції стримується відсутністю багатьох форм: із подовженою (3-5 діб) фазою розкритої квітки, широким екологічним оптимумом розвитку й атрагуючою здатністю зав'язей, плодами, що не осипаються, короткими, але міцними міжвузлями, ознаками самосумісності з метою створення інбредних ліній для селекції на гетерозис.

Матеріал і методи. Для виявлення мутантних форм необхідно широко вивчати прихований генетичний резерв на основі інбридингу, виявляти цінні генотипи з еколого-географічних груп, різні форми генетичного рекомбіногенезу та вивчати генетичну природу з метою визначення стратегії використання в практичній селекції.

У НДІ «Інститут землеробства НААН» для створення та виявлення генетичного різноманіття гречки використовували такі методи, методики та способи:

- виявлення й ідентифікація генотипів із різних еколого-географічних груп;
- генетичний рекомбіногенез за допомогою внутрішньо- та міжвидової гібридизації з подальшим виявленням й ідентифікацією різноманіття генотипів за нащадками;
- інбридинг, як формотворчий процес для поділу популяції гречки на різноманіття генотипів.

© Яцишен О.Л., Тараненко Л.К., 2014

Для виявлення генетичної природи ознаки детермінантності за діалельною схемою проведено схрещування між детермінантними генотипами з різним типом і кількістю суцвіть (1,2 та 4-5).

У схрещування використано такі генотипи:

1 – форма з довгими одноколосковими суцвіттями (однокитицева);

2 – форма з 2 китицями, які виходять з однієї пазухи пагона;

3 – форма «пучок», яка має 4-5 суцвіть;

4 – традиційна індетермінантна форма.

За спільною програмою творчого співробітництва з японськими вченими (Кіотський університет, Японія), методами міжвидової гібридизації проводяться дослідження з інтрогресії ознаки самосумісності від дикого виду *F. homotropicum* Ohnishi до культурного для створення самосумісних ліній з подальшим використанням їх у селекції гречки на гетерозис.

Вид *F. homotropicum* характеризується однорідністю, гомостилею, самофертильністю, диплоїдністю, висотою рослин до 100 см, слабким пагоноутворенням, пазушними і верхівковими суцвіттями, рожевими, білими та дрібними квітками.

Результати і обговорення. Внутрішньовидовий поліморфізм характеризує пристосувальну мінливість рослин гречки. Для майбутніх перспектив розвитку селекції важливі ознаки, які вийшли за межі морфологічної конституції виду (самосумісність, обмежений ріст, раціональний гомеостаз плодоутворення). Єдиним джерелом цих ознак є еволюційний мутаційний резерв роду гречки, який суттєво різниться від внутрішньовидового поліморфізму.

Природний добір направлений проти таких мутацій, але мутантні алелі зберігаються в генофонді виду, утворюючи генетичний пул популяції (Дубінін М.П., 1966, 1976).

Еволюційна цінність мутацій полягає в тому, що вони виходять за межі пристосувальних ознак виду. Деякі спонтанні мутації – єдине джерело для розширення необхідного генетичного матеріалу.

Перші спроби вивчення мутацій у гречки були здійснені Л.Ф. Альтгаузен (1910), С. Егізом (1925, 1929) і А.Ф. Шубіною (1936). Зараз широко використовуються три мутантні форми з обмеженим пагоноутворенням (Fesenko N.V., Fesenko A.N., 2001), а також форма з великими плодами і фізіологічно детермінованим ростом.

У різних селекційних установах виявлено мутацію рослин гречки, яка зумовлює повне або часткове блокування утворення пагонів у зоні гілкування стебла і пагонів першого порядку (*blb* – blocked

branching) (Сабітов А.М., 1995; Fessenko A.N. et al, 2001). Характерною особливістю цих мутацій є слабка реакція на загущення всіх морфотипів *blb*-популяцій. Це свідчить про можливість створення на їхній основі толерантних до загущення сортів із різним вегетаційним періодом (Фесенко А.Н., Фесенко І.А., Фесенко І.Н., 2009).

Російські дослідники виявили мутації, які впливають на розвиток репродуктивної сфери рослин гречки. Вони можуть відіграти суттєву роль у селекції на підвищення врожайності і дружність дозрівання (Фесенко А.Н. та ін., 2009). До них належить мутація «серіальне закладання меристем (С-3м)», яка виявляється в тому, що у пазусі листка утворюється два (або більше) суцвіть чи пагонів.

Крім того, вони виявили мутацію *tepal-like brackct (tlb)*. На основі вивчення фенотипу мутанта зроблено припущення, що функцією гена *TLB* є експресія генів, які формують пелюсткоподібний листочок оцвітини і приводять до «виникнення» характерних для мутанта ознак листочків оцвітини (Фесенко А.Н. та ін., 2005). Ознака контролюється одним рецесивним геном.

Мутація *tlb* деякою мірою зменшує кількість квіток у суцвітті, не знижуючи їхньої фертильності. Водночас частка виповнених плодів зростає.

Виявлено мутацію *articulation (atl)*. Передбачається, що гени цієї мутації впливають на контроль стійкості плодів до осипання. Встановлено, що плодоніжки цієї форми характеризуються збільшеною кількістю пучків порівняно з плодоніжками дикого типу.

Мутація *determinant floret cluster (dfc)* зумовлює редукцію кількості квіток у парціальному суцвітті від 8-12 до 1-2, не знижуючи їхню фертильність. Мутація, виявлена у 2005 р., використовується як донор пониженої ремонтантності. Ознака поводить себе як рецесивна моногенна.

Китайські вчені встановили генетичне різноманіття гречки татарської з використанням ПЛР-методу і виявили обмеженість генетичного різноманіття (Li Ruiguo et al, 2009). Факторним і пластичним аналізом вони підтвердили практичну цінність різноманіття, хоча за деякими ознаками різниця є незначною.

Нині виділено мутантні форми за такими ознаками: неотенія (Самойлович І.Ф., 1951), гомостилія (Marshall H.G., 1969; Зам'яткін Ф.Е., 1971; Фесенко М.В., Антонов В.В., 1973; Фесенко М.М., 1983; Захаров Н.В., 1980; Коваленко В.И., Шимова С.В., 1986), обмежене пагоноутворення (Фесенко М.В., 1975), короткостеблевість (Сабітов А.М., 1984; Фесенко М.В., 1977; Захаров Н.В.,

1981, Тараненко Л.К., 1989), самофертильність (Бобер А.Ф., Тараненко Л.К., 1976; Анохіна Т.О., 1977), зеленоквітковість (Алексєва О.С., 1975), вузьколистковість (Фесенко М.В., 1986; Фесенко М.В., Суворова Г.Н., 1991), форма «вкороченим високоозерним головним стеблом», високоозернена безлистова форма (Тараненко Л.К., 1989) та ін.

У результаті інбридингу, як формотворчого процесу методами розчленування популяцій гречки на різноманіття генотипів за нащадками, виявлені еволюційні “мутантні” форми гречки – детермінантні форми з трьома типами суцвіть, три типи зеленоквітковості, червоноквітковості з колекції ВІРа, вкороченого центрального стебла, карликовості, фасціації та інші (табл. 1.).

Таблиця 1. Різноманіття та спектр ознак гречки, виявлених різними методами в ННЦ «Інститут землеробства НААН»

Ознака	Прояв ознаки за морфологічними або біохімічними показниками	Метод одержання або походження
Зеленоквітковість	- самосумісність; - з рожевим кінчиком квіток; - самонесумісність; - з "шапковим" суцвіттям	Інбридинг
Детермінантність	- однокитицеве суцвіття; - двокитицеве суцвіття; - щиткове суцвіття	Інбридинг
Карликовість	Рослини різної висоти	Інбридинг
Червоноквітковість	Квітки з різною інтенсивністю забарвлення	Колекції ВІР, Устимівська ДС
Вкорочене центральне стебло інтенсивним озерним суцвіттям	Морфологічне проявлення	Інбридинг
Фасціація	Морфологічне проявлення	Колекції ВІР

Виявлені детермінантні форми за формою і кількістю суцвіть: однокитицеві, двокитицеві, багатокитицеві. У гібридів F_1 за кількістю суцвіть проявляється різний характер успадкування – від негативного до позитивного наддомінування.

За характером успадкування типу суцвіть, за якими відрізняються детермінантні форми, у гібридів F_1 проявляється неповне домінування однокитицевості над двокитицевим детермінантом. Повне домінування двокитицевості над багатокитицевістю і комплементарна взаємодія генів у гібридів F_1 у схрещуванні однокитицевого детермінанта з детермінантом, який мав чотири китиць і більше.

За індексними прямими ознаками продуктивності детермінантні форми різних типів суцвіть забезпечили переваги порівняно з тради-

ційними (індетермінантними) формами, особливо переваги двокитицевого детермінанта.

Аналізом гібридів F_1 від схрещувань детермінантних та індетермінантних форм підтверджено, що детермінантність є рецесивною могоною ознакою.

У результаті інбридингу одержали та ідентифікували за нащадками три типи зеленоквіткової еволюційної мутації:

- зеленоквіткова самосумісна форма;
- зеленоквіткова самонесумісна з червоними верхівками пелюсток;
- зеленоквіткова стерильна форма з «шапкоподібними».

Цінність зеленоквіткової форми, за даними Проблемної лабораторії селекції гречки Кам'янець-Подільського сільськогосподарського інституту та інших установ, полягала в тому, що в плодоніжках зеленоквіткової форми було 4-6 судинно-волокнистих пучків, тоді як у звичайних сортів – 2-3, зрідка – 4, що визначало її як джерело стійкості до осипання. Виявлено й різну інтенсивність забарвлення та форми квіток, але генетичну природу різних типів зеленоквіткових форм не вивчали.

У гібридів F_1 , одержаних від схрещування із звичайною білоквітковою формою, виявили, що зеленоквітковість обумовлена дією рецесивного алеля.

Нині тривають дослідження з вивчення генетичної природи зеленоквітковості у виявлених зеленоквіткових типів і стратегії використання їх у селекції гречки на стійкість до осипання та можливостей селекції гетерозисних гібридів. Ведуть також дослідження щодо розширення генетичного різноманіття методами генетичного рекомбіногенезу за внутрішньо- та міжвидової гібридизації, з подальшим виявленням й ідентифікацією різноманіття генотипів за нащадками та вивченням характеру успадкування ознак у гібридів F_1 .

Міжвидова гібридизація є ефективним методом розширення генетичного різноманіття гречки та забезпечує в поєднанні з інбридингом одержання сприятливих комплексів генів, які забезпечують підвищення стійкості до інbredної депресії.

Між кількісними та якісними ознаками часто межа є досить умовною. Можливо, тому, що системні вивчення контролю якісних ознак або не проводили, або вони тільки починаються. Деякі з них беруть безпосередню участь у регуляції екологічної мінливості сортів традиційного типу. Наприклад, антоціанове забарвлення зумовлює пристосувальну роль в еколого-географічній мінливості гречки.

Форми з пурпуровим забарвленням генетично ідентичні, за даними А.В. Железна, червоноквітковість контролюється двома полімерними генами.

Зважаючи на те, що фертильність і життєздатність виявлених біотипів наближені до норми, а антоціанові форми стійкіші до засушливих умов середовища, якими нині характеризуються умови вирощування культури в Україні, виникає необхідність вивчити генетичну природу ознаки для створення посухостійких високопродуктивних сортів гречки.

З огляду на те, що ідентифіковані форми червоноквіткової гречки були схрещені з традиційною білокрітковою формою в кількості 8 червоноквіткових і 6 білокріткових, одержані гібриди F_1 виявилися білокрітковими, що свідчить про рецесивність ознаки червоноквітковості.

На нашу думку, забарвлення зеленокрітковості, червоноквітковість та інші еволюційні мутації є формами, які досить відчутно змінюються під впливом умов середовища, залежать не тільки від генетичної природи, а й регулюються імунно-гормональною системою у відповідь на «стресові» прояви середовища.

Виявлені й ідентифіковані нами короткостеблові форми мають різну висоту. Короткостеблові мутації в рослин обумовлені як рецесивними, так і домінантними генами.

Виявлена форма «високоозернене вкорочене центральне стебло», яке характеризується інтенсивно озерненим суцвіттям у вигляді щитків, виповненим каплевидним зерном, яка до дозрівання зберігає інтенсивно зелене листя і є надзвичайно цінною «фізіологічною рекомбінацією» із специфічною регуляцією фотосистеми, яка забезпечує інтенсивне плодоутворення до повного дозрівання.

При вивченні особливостей природи прояву ознаки у гібридів F_1 , отриманих від схрещування звичайних індетермінантних форм із виявленою формою, проявилось домінування ознаки індетермінантної форми.

У гібридів F_2 за ознакою «вкорочене центральне стебло»: із 212 генотипів – 187 виявились звичайного індетермінантного типу та 65 – із вкороченим центральним стеблом, що свідчить про моногенний рецесивний контроль ознаки.

Виявлені еволюційні мутації трьох типів детермінантності, трьох типів зеленокрітковості, короткостебельності, червоноквітковості, «вкорочене високоозернене центральне стебло» та фасціації детерміновані кваліфікуються як генетичне різноманіття ознак гречки.

Детермінантність, зеленоквітковість, червоноквітковість та короткостебельність контролюються рецесивними алелями.

Завдяки нашому співробітництву з японськими селекціонерами, методами інтрогресії генів, які контролюють ознаку «само-сумісність», від дикого самофертильного виду *F. homotropicum* (гомостилійна форма) до культурного виду за міжвидової гібридизації одержано гетеростилійні гібриди F_1 , що підтверджує їхню гібридність і рецесивний контроль гомостилії.

Самофертильність виду *F. homotropicum* і його гібридів визначається гомостилією, яка в схрещуванні з *F. esculentum* успадковується як моногенна ознака. Гібриди F_1 мають гомостилійні квітки Гg- типу при схрещуванні *F. esculentum* (Д-форма-1, *F. homotropicum*), *F. homotropicum*, як і *F. esculentum*, несе і алельний їй локус гетеростилії (рецесивна алель), який знаходиться в репресивному стані через присутності епістатичного йому гена гомостилії.

Тому, в гібридній комбінації F_2 (довгостовпчаста форма / *F. homotropicum*) спостерігається моногенне розщеплення за альтернативою «гомостилія – відсутність гомостилії», в цьому варіанті «відсутність гомостилії» проявляється довгостовпчастий гетеростилійний фенотип.

Після запилення Д-рослин передача нащадкам ознак квітки не порушено (моногенне розщеплення 1:1). Розщеплення в F_2 (*F. homotropicum* / *F. esculentum* Д-форми) відбулася за співвідношенням 32 гомостилійних форм : 36 довгостовпчастих.

Виявлене генетичне різноманіття гречки за біологічними та господарсько-цінними ознаками, які найбільше обумовлюють продуктивність та адаптивність, буде використано в подальших селекційно-генетичних дослідженнях та в селекційній практиці, як донорів цінних ознак при створенні сортів та гібридів.

1. Альтгаузен А.Ф. К вопросу о наследовании длинно- и короткостебельных цветов у гречихи и к методике селекции этого растения / А.Ф. Альтгаузен // Журн. опытной агрономии. – 1908. – Т. 9. – С. 365-374.

2. Эгиз С. Опыты по обоснованию методики селекции гречихи / С. Эгиз / Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции / Всесоюз. ин-т растениеводства. – Л., 1929. – Т. 21. – Вып. 1. – С. 561-592.

3. Шубина А.Ф. Опыт по скрещиванию гречихи / А.Ф. Шубина // Селекция и семеноводство. – 1936. – № 3. – С. 66-71.

4. Фесенко Н.В. Ограниченно ветвящаяся форма гречихи // Бюллетень НТИ ВНИИЗБК. – Орел: ВАСХНИЛ ВНИИЗБК. – 1975. – № 10 – С. 49-52.

5. Fesenko A.N., Fesenko I.N. *Adaptivnaja rol' al'elya lsb I uspadcuvanie ego v selekcii grechihy. Materialy Vserossijskoj nauchno-practicheskoj konferencii.* – Orel: isd-wo Orel, 2009. P. 3-9.
6. Самойлович И.Ф. *Одностебельная гречиха / И.Ф. Самойлович // Труды Молотовского государственного с.-х. института.* – Молотов: Госиздат. – 1951. – С. 13.
7. Замяткин Ф.Е. *Самоопыляющаяся гречиха / Ф.Е. Замяткин // А.С. Белиловская // Селекция, генетика и биология гречихи / ВАСХНИЛ, Бюл. науч.-техн. информации Всесоюз. НИИ зернобобовых культур.* – Орел, 1971. – С. 103-111.
8. Захаров Н.В. *Новая гомостильная форма гречихи и оценка ее как донора самосовместимости / Н.В. Захаров // Бюл. науч.-техн. информ. Всесоюз. НИИ зернобобовых и крупяных культур.* – Орел, 1980. – № 26. – С. 38-42.
9. Коваленко В.И. *Разрушение гетеростилии и основные этапы эволюции локуса S у гречихи / В.И. Коваленко, С.В. Шимова // Докл. Моск. об-ва испытателей природы. Общая биология.* – М., 1986. – С. 66-68.
10. Сабитов А.М. *Предварительные результаты селекции короткостебельной гречихи / А.М. Сабитов // Науч.-техн. бюл. / Сибирское отд-ние ВАСХНИЛ.* – Новосибирск: СО ВАСХНИЛ, 1979. – Вып. 10-11. – с. 95-97.
11. Анохина Т.А. *Эффективность отбора на самосовместимость у гречихи / Т.А. Анохина // Третий съезд Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова: тезисы докл., Ленинград, 16-20 мая 1977 г. / Всесоюз. о-во генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова при АН СССР.* – Павловск : Тун. ВИР. – 1977. – Ч. I (1). – С. 27.
12. Marshall H.G. *Isolation of self-fertile homomorphic forms in buckwheat Fagopyrum sagittatum Gilib / H.G. Marshall // Crop Sci.* – 1969. – V. 9, N 5. – P. 651-653.
13. Фесенко Н.В., Антонов В.В. *Новая гомостильная форма гречихи / Н.В. Фесенко, В.В. Антонов // Бюл. науч.-техн. информ. Всесоюз. НИИ зернобобовых и крупяных культур / М-во сел. хоз-ва СССР, ВАСХНИЛ.* – Орел, 1973. – Вып. 5. – С. 12-14.
14. Фесенко Н.В. *Селекция и семеноводство гречихи / Н.В. Фесенко.* – М.: Колос, 1983. – 184 с.
15. Бобер А.Ф., Тараненко Л.К. *Взаимодействие диких и мутантных аллелей, контролирующих строение цветка и реакцию самосовместимости в естественной популяции гречихи / А.Ф. Бобер, Л. К. Тараненко // III съезд генетиков и селекционеров Украины: тезисы докл. / АН УССР, Укр. о-во генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова.* – К.: Наук. думка, 1976. – Ч. 2: Частная генетика. – С. 7-8.
16. Тараненко Л.К. *Диссертация на соиск. ученой степени доктора биолог. наук «Генетические основы совершенствования методов селекции гречихи Fagopyrum esculentum Moench.* – Харьков. – 1989. – С. 379.
17. Фесенко А.Н., Фесенко Н.Н. *Влияние локуса Limited secondary Branching (LSB) на развитие репродуктивной системы и*

продуктивность растений гречихи // Доклады РАСХН. – 2006. № 3. – С.4-6.

18. Fesenko I.N. Combility and congruity of interspecific crosses in *Fagopyrum* / I.N.Fesenko, N.N. Fesenko, O. Ohnishi // Proc. 8th Intl. Symp. Buckwheat at Chunchon/ – 2001/ – Vol.1. – P. 404-410.

19. Fesenko I.N. Gametophytic incompatibility system precedell heterostylyty in genus *Fagopyrum*, VOGiS, Moscow, 2005. P. 353.

20. Fesenko I.N. Flower homostyly of *Fagopyrum tataricum* Gaerth, is determined by minus-alleltes of polymeric genes which related to the loci of geterostyly background in *F. cymosum* Meisn / I.N. Fesenko // *Fagopyrum*/ – 2005/ – Vol.20. – P. 7-12.

У зв'язку з вузьким поліморфізмом генофонду гречки прогрес селекції, особливо на адаптивність, стримується відсутністю багатьох форм: із подовженою фазою розкриття квітки, широким екологічним оптимумом розвитку й атрагуючою здатністю зав'язей, стійкістю до осипання плодів, короткими, але міцними міжвузлями, ознакою самосумісності, з використанням якої – створення інбредних ліній для селекції на гетерозис.

Тому перед селекціонерами стоїть завдання вдосконалення геному гречки, в тому числі з використанням мутацій, одержаних у процесі еволюції.

Природний добір направлений проти таких мутацій, але мутантні алелі зберігаються в генофонді виду, утворюючи генетичний пул популяції і деякі з них є єдиним джерелом для розширення генетичного матеріалу й використання в селекції на стабілізацію продуктивності.

Представлені в даній роботі мутації, які виходять за межі пристосувальних ознак виду гречки *Fagopyrum esculentum* Moench.

Ключові слова: селекція гречки, генофонд, еволюційні мутації, адаптивність.

В связи с узким полиморфизмом генофонда гречихи прогресс селекции, особенно на адаптивность, сдерживается отсутствием многих форм: с продленной фазой раскрытия цветка, широким экологическим оптимумом развития и атрагирующей способностью завязей, устойчивостью к осыпанию плодов, короткими, но крепкими междуузлиями, признаком самосовместимости, с использованием которой – создание инбредных линий для селекции на гетерозис.

Поэтому перед селекционерами стоит задача усовершенствования генома гречихи, в том числе с использованием мутаций, полученных в процессе эволюции.

Естественный отбор направлен против таких мутаций, но мутантные аллели сохраняются в генофонде вида, создавая генетический пул популяции и некоторые из них являются единственным источником для расширения генетического материала и используются в селекции на стабилизацию продуктивности.

*Эти мутации представлены в данной работе, которые выходят за границы приспособительных признаков вида гречихи *Fagopyrum esculentum* Moench.*

Ключевые слова: *селекция гречихи, генофонд, эволюционные мутации, адаптивность.*

Due to narrow polymorphism of buckwheat gene pool, progress in selection, especially selection for adaptivity, is held back by absence of many forms. These forms include: form with prolonged flower opening phase, form with broad ecological development optimum and attractive ability of ovaries, form with resistance to fruit abscission, form with short but strong internodes. Another important form is the one with self-compatibility trait, which allows creation of inbred lines for selection for heterosis.

Therefore the goal is to improve buckwheat genome, including use of mutations, that occurred during evolutionary process.

Natural selection is guided against such mutations, but mutant alleles are stored in species' gene pool, and some of them are the sole source for extending genetic material and are used in selection for productivity stabilization.

*These mutations are the ones that are introduced in current paper and exceed the bounds of adaptive traits of *Fagopyrum esculentum* Moench.*

Keywords: *buckwheat selection, genepool, evolution mutations, adaptivity.*

Рецензенти:

Роїк М.В. — д. с.-г. наук

Щербина О.З. — канд. с.-г. наук

Стаття надійшла до редакції 02.09.2014 р.