

ФІЗІОЛОГО-ГЕНЕТИЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 633.11:575.222.73

АДАПТИВНОСТЬ И СПЕКТРЫ ПЕРОКСИДАЗЫ СЛОЖНЫХ ГИБРИДОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

А.Л. Сечняк, О.В. Антошина

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова

Семьи генерации BC₂I₂ / Альбатрос одесский, F₅ обладали в среднем более высокой адаптивностью, чем семьи других генераций. У гибридов выявлена изменчивость по спектру пероксидазы как между группами семей, так и внутри групп. У семей генерации BC₂I₂ / Альбатрос одесский, F₅ в спектре пероксидазы наблюдались интенсивно окрашенные фракции с Rf 0,23-0,26, которые не проявлялись или были слабее выражены у других гибридов.

Пшеница, отдаленная гибридизация, адаптивность, пероксидаза

В последнее время в селекции пшеницы на первое место выдвигается устойчивость к биотическим и абиотическим факторам. С этой целью широко используют генетический потенциал диких сородичей пшеницы с помощью отдаленной гибридизации. Б.В. Ригин [1990] сообщает о переносе от ржи устойчивости к мучнистой росе и низким температурам. Особого внимания заслуживает донор генома D – *Aegilops squarrosa* L. Благодаря именно его участию мягкая пшеница приобрела хлебопекарные свойства [Kerber, Tipples, 1969], адаптивность [Шулындин, 1972] и ряд других признаков, сделавших ее одной из основных продовольственных культур. Вместе с тем, при отдаленной гибридизации кроме желательных генов в геном мягкой пшеницы попадает и ряд генов, детерминирующих нежелательные признаки. Одним из распространенных приемов преодоления негативных последствий отдаленной гибридизации является беккроссирование лучшими сортами пшеницы. Изучению некоторых параметров адаптивности и спектра множественных молекулярных форм пероксидазы у беккросовых потомств пшенично-эгилопсно-ржаных гибридов посвящена представленная работа.

Материалом для исследований служили самоопыленные потомства семейств сложных пшенично-эгилопсно-ржаных гибридов. Пшеница была скрещена с эгилопсно-ржаным амфидиплоидом AD (*squarrosa / cereale*). Полученные гибриды беккроссировали пшеницей [Сечняк, Симоненко, 1998]. Беккроссные потомства подвергали самоопылению, некоторые из них (BC_2I_2) были скрещены с пшеницей Одесская 267 и Альбатрос одесский. Затем путем самоопыления потомков одного растения были созданы семьи.

Гомеостатичность колоса, число колосков в колосе и озерненность колоска определяли только для главного колоса растения. Показатель гомеостатичности колоса является важной составляющей расчета адаптивности генотипов в агроценозах. Признаки число колосков в колосе, озерненность колоска и рассчитанная на основании данных по всем колосьям растений масса 1000 зерен являются компонентами урожайности, которые формируются в онтогенезе позже других. Вследствие этого они имеют более короткий период развития и в меньшей степени подвержены вариации, чем другие признаки. С другой стороны эти признаки имеют максимальный вклад в продуктивность [Хангильдин, Бирюков, 1984; Симоненко и др., 2000]. Гомеостатичность колоса рассчитывали по формуле:

$$ГК = \bar{X}^2 / \sigma \quad ГК = \bar{x}^2 / \sigma$$

для показателя “число колосков в колосе” [Хангильдин, Хейфец, 1992]. Число колосков в колосе определяли по стандартной методике, подсчитывая все колоски в колосе, в том числе и недоразвитые. Озерненность колоска определяли делением количества зерен, которые завязались в колосе, на количество колосков в нем. Массу тысячи зерен рассчитывали, опираясь на массу зерна и количество зерен с растения. Статистическую обработку выполняли с помощью критерия Стьюдента [Рокицкий, 1973].

Экстракцию ферментов осуществляли из 7-дневных этиолированных проростков буфером (0,05 М трис-HCl, pH=6,8, 0,1 % дитиотиэтол, 0,1 % аскорбиновая кислота, 15 % сахароза, 1 % тритон X-100) в соотношении ткань : буфер - 1:1. Для более полной экстракции гомогенат оставляли на ночь в холодильнике и центрифугировали непосредственно перед электрофорезом. Надосадочная жидкость содержала легкорастворимые и мембранные связанные формы ферментов.

Электрофорез проводили в 10 % полиакриламидном геле в системе Девиса [1964] без использования концентрирующего геля. В качестве субстрата для выявления пероксидазы использовали бензидин.

Показатели ряда компонентов адаптивности приведены в табл. 1.

Анализ параметра гомеостатичности колоса показал, что различия наблюдались как между семьями в пределах одной генерации, так и между генерациями. При этом наибольшей гомеостатичностью колоса характеризовались семьи генерации BC₂I₂ / Альбатрос одесский, F₅, а наименьшим этот показатель был у семей генерации BC₃I₆.

Таблица 1.
Показатели составляющих компонентов адаптивности
сложных гибридов мягкой пшеницы

Генерация, семья	Главный колос			Масса 1000 зёрен, г
	гомеоста- тичность колоса	число коло- сков в коло- се	озернённость колоска	
BC ₂ I ₂ / Од.267, F ₅				
27	105,8	14,4±0,6	1,3±0,1	30,0±0,2
28	114,3	12,0±0,4	1,0±0,1	30,1±0,2
29	114,0	14,6±0,5	1,2±0,1	31,8±0,3
30	96,0	13,0±0,5	1,1±0,1	30,6±0,2
31	139,4	14,7±0,4	1,2±0,1	31,4±0,4
32	115,0	13,0±0,4	1,1±0,1	29,4±0,3
33	79,3	12,5±0,6	1,0±0,1	32,1±0,4
34	98,0	14,0±0,6	1,1±0,1	34,2±0,1
Среднее	97,9	13,5±0,4	1,1±0,1	31,2±0,3
BC ₂ I ₂ / Альбатрос одесский, F ₅				
35	131,1	16,2±0,5	1,3±0,1	29,1±0,6
36	96,3	16,8±0,9	1,3±0,1	36,2±0,4
37	156,7	14,2±0,3	1,6±0,2	43,0±0,8
Среднее	128,0	15,7±0,3	1,4±0,1	36,1±0,3
BC ₂ I ₇				
38	120,0	14,2±0,4	1,1±0,1	32,9±0,4
39	106,7	14,2±0,6	1,3±0,2	40,0±0,4
40	78,2	13,9±0,7	1,1±0,1	31,8±0,3
41	105,8	14,4±0,6	1,2±0,1	32,0±0,3
42	107,3	13,7±0,5	1,0±0,1	28,6±0,3
43	61,4	14,6±1,1	1,0±0,1	20,5±0,7
44	106,2	13,4±0,5	1,0±0,1	26,4±0,5
Среднее	97,9	14,4±0,6	1,2±0,1	30,3±0,4
BC ₃ I ₆				
45	80,0	15,2 ± 1,1	1,1±0,1	24,5±0,5
46	68,0	16,0±1,2	1,1±0,1	20,1±0,3
Среднее	74,0	15,6 ± 1,0	1,1 ± 0,1	22,3±0,3

Анализ количества колосков в колосе среди семей, относящихся к одной генерации, показал, что достоверные ($P<0,01$ и $P<0,05$) различия наблюдались в генерации BC_2I_2 / Одесская 267, F_5 (между семьей 27 и семьями 28 и 33, семей 28 и семьями 29, 31 и 34, семей 29 и семьями 32 и 33, семей 31 и семьями 30, 32 и 33) и в генерации BC_2I_2 / Альбатрос одесский, F_5 (между семьями 36 и 37). В остальных генерациях достоверных различий между семьями не обнаружено. Удалось выявить достоверные ($P<0,01$ и $P<0,05$) различия между генерацией BC_2I_2 / Одесская 267, F_5 и генерациями BC_2I_2 / Альбатрос одесский, F_5 и BC_3I_6 . В генерации BC_2I_2 / Альбатрос одесский, F_5 признак число колосков в колосе был наибольшим.

Озерненность колоска была относительно низкой. В аналогичных опытах этот показатель составлял 1,3–1,8 зерновок на колосок [Черный, Черная, 1990]. Тем не менее, несмотря на общее снижение величины признака, вариабельность его была относительно невысокой, и нам удалось выявить достоверные различия между генерациями, но не между семьями в пределах одной генерации. Так, в генерации BC_2I_2 / Альбатрос одесский, F_5 озерненность колоска была достоверно выше ($P<0,01$), чем в генерациях BC_2I_2 / Одесская 267, F_5 и BC_3I_6 .

Признак масса 1000 зерен был очень вариабилен. Достоверные различия ($P<0,001$ и $P<0,01$) обнаружены при сравнении большинства семей внутри генераций. Так же высоко достоверны были и различия между средними показателями данного признака для большинства генераций. Исключение составили генерации BC_2I_2 / Одесская 267, F_5 и BC_2I_7 , для которых не удалось доказать достоверность различий между средними значениями признака. Наибольшее среднее значение массы 1000 зерен наблюдалось в генерации BC_2I_2 / Альбатрос одесский, F_5 . В этой же генерации были наибольшими показатели озерненность колоска, число колосков в колосе, продуктивная кустистость и параметр гомеостатичности колоса.

Таким образом, учитывая вышеизложенное и то, что рост массы 1000 зерен произошел не за счет снижения озерненности колоска, а наоборот, на фоне ее роста, можно сделать вывод, что семьи генерации BC_2I_2 / Альбатрос одесский, F_5 обладали в среднем более высокой адаптивностью, чем семьи остальных генераций. Учитывая наличие достоверных различий между семьями внутри одних и тех же генераций по отдельным компонентам адаптивности, можно однозначно сделать вывод о значительном вкладе стохастических процессов в подбор генных комбинаций, обладающих различной адаптивностью. Однако не вызывает сомнений, что включение в гибридизацию пшеницы Альбатрос одесский существенно повлияло на повышение адаптивности семей сложных гибридов.

Спектр пероксидазы сложных гибридов сベンзидином приведен на рисунке 1. У всех потомств наблюдаются две сходные фракции, с Rf 0, 04 и с Rf 0,52, которые отличаются между семействами интенсивностью окрашивания. У гибридов BC₂I₂ / Одесская 267, F₅ у некоторых семей довольно хорошо заметна фракция с Rf 0,08 и Rf 0,23. Фракция с Rf 0,32 отмечается только у двух семей, и не очень сильно выражена. Фракция с Rf 0,47 наблюдается у трех семей и так же не четкая. У гибридов BC₂I₂ / Альбатрос одесский, F₅ преобладающей является фракция с Rf 0,04, она здесь четко выражена и хорошо заметна. Фракция с Rf 0,23 так же отчетливо видна у двух семей, она схожа с фракцией одного из родителей (Альбатросом одесским). У двух семей слабо выражена фракция с Rf 0,47, а фракция с Rf 0,52 проявляется довольно хорошо. У гибридов BC₃I₇ наблюдаются заметные различия. Прежде всего, во фракции с Rf 0,04, которая в одной из семей практически не проявляется. Так же не сильно и не везде проявляется фракция с Rf 0,18 и с Rf 0,47. А фракции с Rf 0,23; Rf 0,26; Rf 0,36 вообще проявились только в какой-то одной из семей. Фракция с Rf 0,52 так же весьма вариабельна во всех семействах, а в одном практически не заметна. У потомств BC₃I₇ нет различий во фракциях, они не отличаются между собой даже по интенсивности окрашивания.

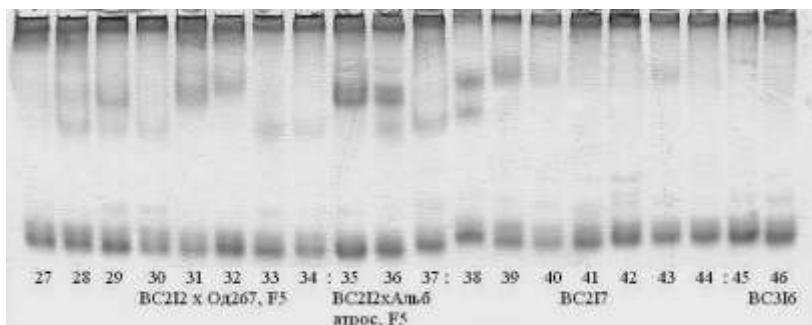


Рисунок 1. Спектр пероксидазы на субстратеベンзидин в различных семьях сложных гибридов пшеницы

Проведенные исследования позволили установить гетерогенность сложных гибридов пшеницы, полученных по различным схемам скрещиваний, по спектру пероксидазы. Эта гетерогенность обусловлена различиями спектров множественных молекулярных пероксидазы родительских форм гибридов. При этом у семей гибридов генерации BC₂I₂ / Альбатрос одесский, F₅ и мягкой пшеницы Альбатрос одесский

в спектре пероксидазы наблюдались интенсивно окрашенные фракции с Rf 0,23-0,26, которые не проявлялись или были слабее выражены у других гибридов и родителей. Этот факт подтверждает предположение о вкладе в повышение адаптивности семей данной генерации именно пшеницы Альбатрос одесский.

Выводы. 1. Семьи генерации BC₂I₂ / Альбатрос одесский, F₅ обладали в среднем более высокой адаптивностью, чем семьи других генераций. 2. У сложных гибридов пшеницы выявлена изменчивость по спектру множественных молекулярных форм пероксидазы как между группами семей, так и внутри групп. 3. У семей гибридов генерации BC₂I₂ / Альбатрос одесский, F₅ в спектре пероксидазы наблюдались интенсивно окрашенные фракции с Rf 0,23-0,26, которые не проявлялись или были слабее выражены у других гибридов.

Библиографический список

1. *Ригин Б.В.* Гибридизация пшеницы с рожью: научный и практический аспекты // Цитогенетика зерновых культур / АН Эстонии. – Таллинн, 1990. – С.109-112.
2. *Рокицкий П.Ф.* Биологическая статистика. – Минск: Вышайшая школа, 1973. – 320 с.
3. *Січняк О.Л., Симоненко В.К.* Використання егілопсно-житнього амфідиплоїду для передачі в пшеницю чужорідного генетичного матеріалу // Агроекологія і біотехнологія. Зб. наук. праць. Вип. 2. – Київ: Ін-т агроекології і біотехнології УААН, 1998. – С.179-183.
4. *Симоненко В.К., Хангильдин В.В., Власенко В.А.* Влияние генома сорта на адаптивные особенности аллоплазматических линий озимой пшеницы // Цитология и генетика. – 2000. – Т.34, №3. – С.21-27.
5. *Хангильдин В.В., Бирюков С.В.* Проблема гомеостаза в генетико-селекционных исследованиях // Генет.-цитол. аспекты селекц. с.-х. раст. / Сб. научн. тр. – Одесса: ВСГИ, 1984. – С.67-76.
6. *Хангильдин В.В., Хейфец А.М.* Экспресс-метод расчета адаптивности сортов озимой пшеницы // НТБ селекційно-генетичного інст. – 1992. – №1(81). – С.18-21.
7. *Черный И.В., Черная М.А.* Использование биометрических методов в селекции яровой пшеницы // Характеристика генома некоторых видов сельскохозяйственных растений. – Новосибирск: СО АН СССР, 1990. – С.211-229.
8. *Шульгин А.Ф.* Генетические основы эволюции морозостойкости мягкой пшеницы // С.-х. биология - 1972. – 7, № 6. – С. 16-27.

9. *Davis B.I.* Disk-electrophoresis. 2. Method and application to human serum protein//Ann.N.- J. Acad. Sci. – 1964. – 121. – P. 404-427.
10. *Kerber E.R., Tipples K.H.* Effect of the D genome on milling and baking properties of wheat // Can. J. Plant Sci.–1969.– 49.– P. 255-263.

Родини генерації BC₂I₂ / Альбатрос одеський, F₅ мали, в середньому, більш високу адаптивність, ніж родини інших генерацій. У гібридів виявлено мінливість за спектром пероксидази як між групами родин, так і всередині груп. У родин генерації BC₂I₂ / Альбатрос одеський, F₅ в спектрі пероксидази спостерігались інтенсивно забарвлени фракції з Rf 0,23-0,26, які не проявлялися або слабкіше виявлялися у інших гібридів.

Families BC₂I₂ / Albatros odeskyi F₅ generations had, on the average, a higher adaptiveness than the families of the other generations. The variation in peroxidase bands was revealed in the hybrids both between the family groups and within the groups/ In the families of F₅ generations BC₂I₂ / Albatros odeskyi intensively colored fractions with Rf 0,23-0,26 were observed in peroxidase band which were not manifested or weakly displayed in the other hybrids.