

УДК: 581:633

ОСОБЛИВОСТІ УСПАДКУВАННЯ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ *TRITICUM KIHARAE* DOROF ET MIGUSCH. І *T. MIGUSCHOVAE* ZHIROV В ЛІНІЯХ ВІД СХРЕЩУВАНЬ З М'ЯКОЮ ПШЕНИЦЕЮ

О.В. ТВЕРДОХЛІБ¹, Н.А. КОЗУБ^{2,3}, І.А. СОЗІНОВ², Р.Л. БОГУСЛАВСЬКИЙ¹

¹ Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України
 Національний центр генетичних ресурсів рослин України
 Україна, 61060, Харків, Московський проспект, 142
 e-mail: etverd@meta.ua

² Інститут захисту рослин НААН України,
 Лабораторія екологічної генетики рослин і біотехнології
 Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 33
 e-mail: sia1953@mail.ru

³ ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України»
 Лабораторія молекулярної генетики рослин
 Україна, 04123, Київ, вул. Осиповського, 2а

У форм м'якої пшениці, трансгресивних за ознаками продуктивності, одержаних від схрещувань м'якої ярої пшениці з *T. kiharae* та *T. miguschovae*, визначали наявність інтрогресованого генетичного матеріалу амфіплоїдів із використанням електрофоретичного аналізу гліадинів і глютенінів та ISSR маркерів. У більшості зразків інтрогресію від *T. kiharae* ідентифіковано за локусами запасних білків *Gli-A1*, *Gli-D1*, *Glu-D1*. У одичних форм виявлені білкові компоненти *T. kiharae* та *T. miguschovae*, що кодуються алелями локусів *Glu-A1*, *Gli-G1* і *Glu-G1*. Застосування праймерів ISSR842 і ISSR846 дозволило виявити у інтрогресивних ліній компоненти, притаманні *T. kiharae*. Праймери ISSR852 і ISSR2 виявилися неефективними для маркування інтрогресій.

Ключові слова: пшениця, *T. kiharae*, *T. miguschovae*, інтрогресія, молекулярні маркери, гліадин, глютенін, праймери, ISSR.

Вступ. Для генетичного покращення культурної пшениці перспективним є використання *Triticum timopheevii* Zhuk. як носія комплексу цінних генів господарських та біологічних ознак і властивостей, перш за все імунітету до низки хвороб і шкідників, високого вмісту білка та клейковини у зерні та ін. [1]. Генетична ізольованість цього виду від м'якої пшениці дуже звужує можливість переносу генетичного матеріалу шляхом рекомбінацій при прямому схрещуванні. Тому перспективним є використання у схрещуваннях амфіплоїдів, що несуть повний набір генів *T. timopheevii* (або похідного від нього виду *T. militinae*) у поєднанні з геномом *D* спорідненого м'якій пшениці виду егілопса *Aegilops tauschii* Coss. Такими амфіплоїдами є *T. kiharae* (*T. timopheevii* – *Ae. tauschii* Coss., геномна формула A^bA^bGGDD , $2n=42$) та *T. miguschovae* (*T. militinae* – *Ae. tauschii* subsp. *strangulata*, геномна формула $A^bA^bG^mG^mDD$, $2n=42$) [2, 3].

© О.В. ТВЕРДОХЛІБ, Н.А. КОЗУБ, І.А. СОЗІНОВ, Р.Л. БОГУСЛАВСЬКИЙ, 2011

Ефективність використання віддаленої гібридизації для генетичного покращення пшениці базується на знанні закономірностей інтрогресії у її генотип генетичного матеріалу споріднених видів і форм. Зокрема, практичний інтерес має питання: як успадковується чужорідний генетичний матеріал у потомстві віддалених гібридів. Ідентифікація чужорідного генетичного матеріалу, інтегрованого у генотип м'якої пшениці, за допомогою молекулярних маркерів створює передумови для цілеспрямованої інтрогресії цінних генів.

Різноманіття способів маркування генетичного матеріалу досить велике, але в останні десятиріччя очевидну перевагу набули молекулярні маркери різних первинних послідовностей ДНК. Одним із методів маркування є ISSR (Inter-simple-sequence-repeats)-аналіз. Цей тип ДНК-маркерів дозволяє одночасно аналізувати кілька міжмікросателітних ділянок геномної ДНК досліджуваного рослинного матеріалу, отриманого при віддаленій гібридизації. До переваг ISSR-маркерів можна віднести низьку собівартість аналізів, а також присутність широкого спектра фрагментів геномної ДНК, що підвищує ймовірність виявлення чужинного генетичного матеріалу в геномі реципієнтної форми.

У генетико-селекційних дослідженнях злаків інформативними як генетичні маркери виявилися також групи високополіморфних запасних білків. У пшениці вони представлені гліадинами і глютенінами. Запасні білки є зручними маркерами для ідентифікації, реєстрації та аналізу чистоти зразків пшениці завдяки високому поліморфізму, простоті та дешевизні їх аналізу методами електрофорезу білків. Гліадини м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L., $2n=6x=42$, AABBDD) кодуються 6 основними локусами *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Gli-A2*, *Gli-B2* і *Gli-D2*, розміщеними дистально на коротких плечах хромосом 1 і 6 гомеологічних груп. Кожен локус кодує

синтез до 25 компонентів. З локусами *Gli-1* тісно зчеплені локуси, які кодують більшість низькомолекулярних субодиниць глютенінів (*Glu-3*). Локуси, що кодують високомолекулярні (ВМ) субодиниці глютенінів (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*), знаходяться на довгих плечах хромосом першої гомеологічної групи та також характеризуються множинним алелізмом [4]. Можливості використання запасних білків як генетичних маркерів для ідентифікації інтрогресій від *T. miguschovae* були продемонстровані в роботах Злацької та ін. [5, 6].

Метою нашої роботи є встановлення впливу добору за ознаками продуктивності рослин на успадкування інтрогресованого генетичного матеріалу *T. kiharae* і *T. miguschovae* у лінії м'якої пшениці з використанням біохімічних маркерів – запасних білків і ДНК.

Матеріали і методи

Зразки *T. kiharae* та *T. miguschovae* люб'язно надані Всеросійським інститутом рослинництва імені М. І. Вавилова (ВІР), Росія, і включені до Національного ген-банку рослин України під номерами відповідно UA0500014 та UA0500016. Сорт м'якої ярої пшениці Харківська 26 (UA0101499) наданий оригіном – лабораторією селекції ярої пшениці Інституту рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН, Україна. 17 зразків м'якої пшениці одержано шляхом добору в ряду поколінь форм, трансгресивних за елементами продуктивності рослини. Вони є потомством простих схрещувань Харківська 26 × *T. kiharae* – 8 зразків; беккросів (Харківська 26 × Ч *T. kiharae* × Харківська 26) – 3 зразки; подвійних беккросів (Харківська 26 × *T. kiharae*) × Харківська 26 × Харківська 26 – 2 зразки. Аналізували також по одній константній формі F_7 , відібраній у потомстві природних гібридів *T. kiharae* × *T. aestivum* та *T. miguschovae* × *T. aestivum*

Аналіз електрофоретичних спектрів запасних білків зернівки проводили на 2–5 зернівках кожного зразка. Електрофорез гліадинів проводили в кислому середовищі в поліакриламідному гелі за методикою Козуб і Созінова [5] в модифікації [6]. Для ідентифікації алелів гліадинкодуєчих локусів використовували каталог [7]. Електрофорез ВМ субодиноць глютенінів у присутності додецилсульфату натрію проводили за модифікованою методикою [8]. Алелі ВМ субодиноць глютенінів ідентифікували за каталогом [9]. Алелі запасних білків, що походять від *T. kiharae* та *T. miguschovae*, які відрізняються від алелів у вказаних каталогах, визначали шляхом порівняння спектрів батьківських форм із спектрами інтрогресивних ліній. Їх позначали, відповідно, як *kh* і *mg*. При визначенні цих алелів брали до уваги дані робіт [5, 6, 12, 13].

ДНК виділяли з суміші насіння СТАВ методом [14]. Для проведення ПЛР використовували 14 праймерів (табл. 1). Ампліфікацію ДНК проводили в пробірках з ліофілізованим набором реактивів для ПЛР (GenePak PCR core) у ампліфікаторі Терцик (Росія). Кінцевий об'єм реакційної суміші склав 20 мкл і містив 20 нг ДНК і 0,2 мкМ праймера. ПЛР проводили в такому режимі: початкова денатурація – 4 хв при 94 °С, наступні 40 циклів з такими параметрами: денатурація – 30 сек при 94 °С, гібридизація праймера – 45 сек при 52 °С, елонгація – 45сек при 72 °С; кінцева елонгація – 7 хв при 72 °С. Поділ продуктів ампліфікації проводили методом горизонтального електрофорезу в 2 % агарозному гелі в присутності бромистого етидію. Електродний буфер використовували з низькою іонною силою [15].

Візуалізацію продуктів ампліфікації здійснювали за допомогою трансільюмінатора ТСП–20мс з подальшим фотографуванням гелів. Як маркера молекулярної маси для визначення розмірів ампліфіко-

Таблиця 1. Мікросателітні локуси та послідовність нуклеотидів у праймерах для ідентифікації чужинного генетичного матеріалу в геномі інтрогресивних зразків

Назва праймера	Послідовність нуклеотидів у праймерах 5'-3'[15,16]
ISSR807	AGAGAGAGAGAGAGAGT
ISSR810	GAGAGAGAGAGAGAGAT
ISSR812	GAGAGAGAGAGAGAGAA
ISSR825	ACACACACACACACT
ISSR826	ACACACACACACACC
ISSR834	AGAGAGAGAGAGAGCTT
ISSR842	GAGAGAGAGAGAGAGACTG
ISSR846	CACACACACACACAAGT
ISSR847	CACACACACACACAAGC
ISSR857	ACACACACACACACCTG
ISSR2	CACACACACACACAAG
ISSR3	CACACACACACACAGG
ISSR4	CTCTCTCTCTCTCTTG
ISSR5	CACACACACACACAAC

ваних фрагментів використовували 1 kb DNA ladder.

Результати та обговорення

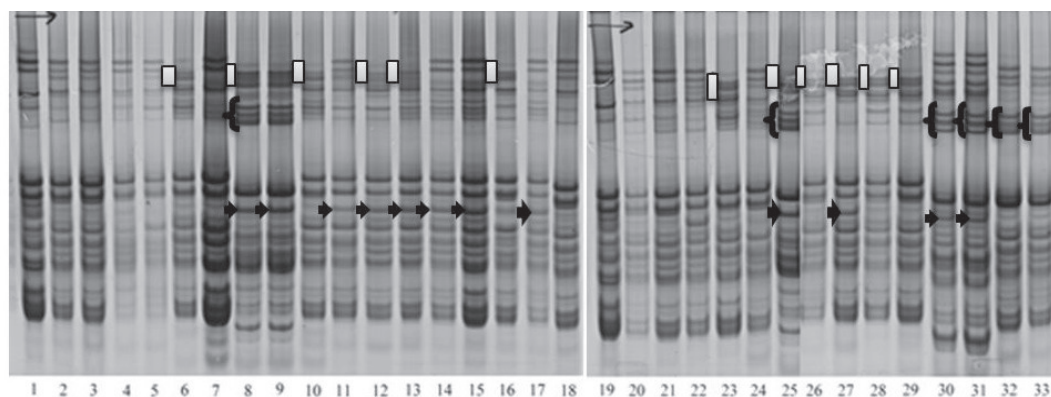
Аналіз електрофоретичних спектрів запасних білків. Результати аналізу інтрогресивних ліній за гліадиновими локусами хромосом першої гомеологічної групи *Gli-1* та локусами ВМ субодиноць глютенінів *Glu-1* наведено у табл. 2.

Виявилось, що, хоча морфологічно кожна лінія є вирівняною і подібною до батьківського сорту м'якої ярої пшениці Харківська 26, майже всі зразки є гетерогенними за присутністю алелів локусів запасних білків (рис. 1). Однорідними виявилися лише дві – TV 86 та TV 67. Крім того, у ряду ліній ідентифіковано алелі, відсутні у вихідних батьківських форм, наприклад,

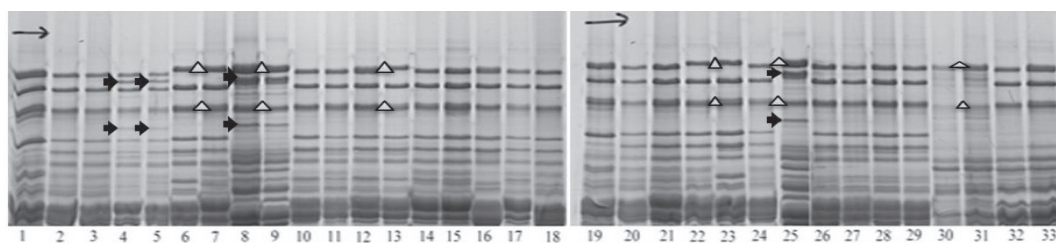
Таблиця 2. Генотипи зернівок зразків інтрогресивних ліній та батьківських форм за локусами гліадинів та високомолекулярних субодиниць глютенінів

Назва лінії	Походження	Гліадинкодуєчі локуси				Глютенінкодуєчі локуси			
		<i>Gli-A1</i>	<i>Gli-B1</i>	<i>Gli-D1</i>	<i>Gli-G1</i>	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	<i>Glu-G1</i>
	Харківська 26	f	e	i		c	a	d	
	<i>T. kiharae</i>	kh ¹		kh	kh	kh		kh (e)	kh
TV 70	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	c	e	f		c	a	d	kh
TV 70	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	c	e	i		c	a	d	kh
TV 77	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	c	e	kh		kh	c	kh (e)	
TV 77	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	c	e	f		kh	c	kh (e)	
TV 80	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	c	e	kh		c	a	d	
TV 80	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	kh	e	i		c	c	d	
TV 84	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	kh	e	kh		b	c	d	
TV 84	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	kh	e	kh		c	c	kh (e)	
TV 86	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	kh	e	f		c	c	d	
TV 86	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	kh	e	f		c	c	d	
TV 88	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	f	e	kh		b	a	d	
TV 88	F ₇ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>	kh	e	f		c	c	d	
TV 62	F ₆ bc ₁ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i> × Харківська 26	f	e	f		c	c	d	
TV 62	F ₆ bc ₁ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i> × Харківська 26	kh	e	i		c	c	kh (e)	
TV 64	F ₆ bc ₁ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i> × Харківська 26	c	e	kh		c	c	kh (e)	
TV 64	F ₆ bc ₁ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i> × Харківська 26	f	e	i		c	c	d	
TV 67	F ₇ Природний гібрид <i>T. kiharae</i> × <i>T. aestivum</i>	f	e	kh		c	a	d	
TV 67	F ₇ Природний гібрид <i>T. kiharae</i> × <i>T. aestivum</i>	f	e	kh		c	a	d	
TV 46	F ₃ Харківська 26 × (F ₃ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>)	f	e	kh		c	a	d	
TV 46	F ₃ Харківська 26 × (F ₃ Харківська 26 × <i>T. kiharae</i>)	kh	e	kh		c	a	d	
	<i>T. miguschovae</i>	mg ²		j	mg	b		mg (e)	mg
TV 114	F ₇ Природний гібрид <i>T. miguschovae</i> × <i>T. aestivum</i>	?		i	mg	c	a	d	
TV 114	F ₇ Природний гібрид <i>T. miguschovae</i> × <i>T. aestivum</i>	?		i	mg	b	c	d	

Примітка: kh¹ – алель від *T. kiharae*; mg² – алель від *T. miguschovae*; ?³ – не ідентифікований алель.



а



б

Рис. 1. Електрофореграма гліадинів (а) і високомолекулярних субодиниць глютенінів (б) зерен інтрогресивних ліній сортів м'якої пшениці *T. kiharae* і *T. migushovae*: 1, 19 – Безоста 1; 2, 3, 18, 20 – Харківська 26; 4, 5 – лінія TV 70; 6, 7– TV 77; 8, 9, 25– *T. kiharae*; 10, 11– TV 80; 12, 13– TV 84; 14, 15– TV 86; 16, 17– TV 88; 21, 22– TV 62; 23, 24– TV 64; 26, 27– TV 46; 28, 29– TV 67; 30, 31– *T. migushovae*; 32, 33– TV 114. На електрофореграмі гліадинів (а) стрілкою позначено компонент, що кодується алелем *Gli-A1kh T. kiharae*; прямокутниками позначено компоненти, що кодується алелем *Gli-D1kh T. kiharae*; фігурною дужкою позначено компоненти, що кодується локусом *Gli-G1 T. kiharae*, *T. migushovae*. На SDS-електрофореграмі (б) стрілками позначено високомолекулярні субодиниці глютенінів, що кодується алелем локусу *Glu-G1 T. kiharae*; трикутниками позначено високомолекулярні субодиниці глютенінів, що кодується алелем *Glu-D1kh T. kiharae* та *Glu-D1mg T. migushovae* (доріжки 30, 31).

Gli-A1c, *Gli-D1f* у ліній TV 70, TV 77 (табл. 2), що свідчить про підвищену здатність даного матеріалу до перехресного запилення в ранніх поколіннях. Отже, дані лінії є сім'ями, які можна підрозділити на ряд біотипів.

У переважній більшості зразків виявлено інтрогресовані алелі за одним або більше локусами запасних білків (переважно за локусами *Gli-A1*, *Gli-D1*, *Glu-D1*) від *T. kiharae* (у табл. 2 позначено «kh») – TV 77, TV 80, TV 84, TV 86, TV 88, TV 62, TV 64, TV 67, TV 46. Компоненти запасних білків, що кодується алелями локусів геному G, іден-

тифіковано лише у двох ліній – за локусом *Glu-G1* від *T. kiharae* у лінії TV 70 та за локусом *Gli-G1* від *T. migushovae* (у табл. 2 позначено «mg») у лінії TV 114. Інтрогресовані компоненти зберігаються і після одноразового беккросу.

Компоненти запасних білків від амфіплоїдів не виявлено у двох ліній від простих схрещувань TV 74, TV 94, однієї лінії від беккросу (TV 60) та двох ліній (TV 96, TV 98) від подвійного беккросу.

Успадкування компонентів запасних білків, характерних для амфіплоїдів, відбувається за гліадиновими локусами *Gli-A1*

(у 6 ліній) і *Gli-D1* (у 8 ліній) і локусами ВМ субодиноць глютенінів *Glu-D1* (4 лінії), *Glu-A1* (1 лінія). Компоненти, що кодується алелем локусу *Glu-D1 T. kiharae*, позначеним *kh*, за рухомістю подібні до компонентів «пшеничного» алеля *Glu-D1e* та компонентів цього локусу *T. miguschovae*.

Інтрогресії, що стосуються субгену *G*, мають місце лише в одиничних випадках. У зразка TV 114 виявлено гліадиновий компонент, що кодується алелем локусу *Gli-G1* від *T. miguschovae*. З носіїв інтрогресій від *T. kiharae* лише один TV 70 має компонент, що кодується алелем локусу *Glu-G1* цього амфіплоїда. Лінія TV 70 має ВМ субодиноць глютенінів, що кодується локусами *Glu-B1* і *Glu-G1*, гліадинові компоненти, що кодується локусом *Gli-B1*, та не експресує компоненти, контрольовані локусом *Gli-G1*. Це вказує на те, що транслокація плеча 1GL або його фрагмента відбулася не на хромосому 1В, як можна було б очікувати виходячи з певної спорідненості геномів *B* і *G*. Навпаки, у лінії TV 114 присутність інтрогресованого блоку гліадинів, що кодується локусом *Gli-G1* від *T. miguschovae*, супроводжується відсутністю гліадинів, що контролюються локусом *Gli-B1*, та наявністю ВМ субодиноць глютенінів, що кодується генами локусу *Glu-B1*. Це може вказувати на транслокацію короткого плеча хромосоми 1G або його частини на хромосому 1В.

Потомства природних гібридів TV 67 та TV 114, що мають цитоплазму, відповідно *T. kiharae* та *T. miguschovae* успадкували від цих амфіплоїдів гліадинові компоненти, що контролюються локусами *Gli-D1* та *Gli-G1*, і не успадкували відповідні глютенінові компоненти.

Наявність у інтрогресивних форм м'якої пшениці у локусі *Gli-A1* компонентів, притаманних *T. kiharae*, свідчить про можливість рекомбінації між субгенами A^u м'якої пшениці (який походить від *T. urartu*) та A^b *T. kiharae* (походить від *T. boeoticum*).

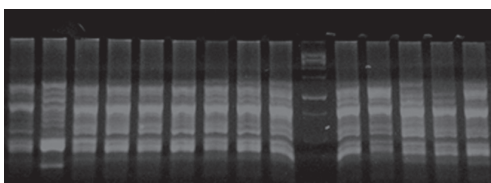
Присутність у інтрогресивних форм м'якої пшениці у локусах *Gli-D1* та *Glu-D1* компонентів, що походять від *T. kiharae*, також вказує на рекомбінацію між субгенами *D* м'якої пшениці (який походить від *Ae. tauschii subsp. strangulate* (Eig) Tzvel.) та *T. kiharae* (походить від *Ae. tauschii subsp. tauschii*).

Аналіз ДНК маркерів. На першому етапі роботи за допомогою 14 праймерів (див. табл. 1) ми аналізували відмінності за молекулярними маркерами батьківських форм – Харківська 26 і *T. kiharae*. З 14 праймерів були відібрані тільки 4 – ISSR842, ISSR846, ISSR852 і ISSR2 як найприйнятніші для ідентифікації чужорідного генетичного матеріалу в геномі інтрогресивних ліній. Ці праймери при ампліфікації геномної ДНК батьківських форм давали по кілька ампліконів, з яких деякі були поліморфними. Кількість стабільно відтворюваних ампліконів при використанні праймера ISSR842 варіювала від 4 до 6. Максимальна кількість продуктів ампліфікації була характерною для материнської форми, а мінімальна для батьківської (рис. 3). При використанні праймера ISSR846 було ідентифіковано 5 і 7 ампліконів відповідно для сорту Харківська 26 і *T. kiharae*. ISSR-маркери, які виявляються за допомогою праймера ISSR857, у батьківських форм були ідентичними, за винятком одного компонента у м'якої пшениці, що був присутній і в інтрогресивних лініях. Це ж спостерігали при використанні ISSR2, який ідентифікував відповідно від 7 до 3 компонентів у материнської та батьківської форм. Єдиний фрагмент розміром ~750 п.о., властивий *T. kiharae*, був відсутній у інтрогресивних ліній пшениці.

На другому етапі роботи за допомогою визначених 4-х праймерів було проаналізовано 12 інтрогресивних форм м'якої пшениці, створених схрещуванням сорту Харківська 26 з *T. kiharae*, які входили в описаний вище набір, проаналізований за

Назва праймера	ISSR846		ISSR842		ISSR857		ISSR2	
Батьківські форми	1*	2*	1	2	1	2	1	2

Рис. 2. Відмінності між батьківськими формами за складом ампліконів при використанні чотирьох праймерів: 1* *T. aestivum* сорт Харківська 26; 2* *T. kiharae*



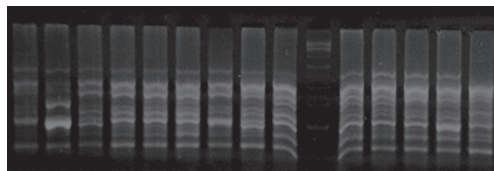
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Рис. 3. Спектри ампліконів ДНК, одержані за допомогою праймера ISSR846. 1 – *T. aestivum* сорт Харківська 26; 2 – *T. kiharae*; 3 – TV 46; 4 – TV 60; 5 – TV 62; 6 – TV 64; 7 – TV 67; 8 – TV 74; 9 – TV 77; 10 – маркер молекулярної маси 1 kb DNA ladder; 11 – TV 80; 12 – TV 84; 13 – TV 86; 14 – TV 88; 15 – SpSe1

електрофоретичними спектрами запасних білків. Аналіз ДНК-спектрів цих зразків показав, що ампліфіковані ділянки ДНК, детектовані з використанням праймерів ISSR857 і ISSR2, були повністю ідентичні ампліконам м'якої пшениці. Це свідчить про відсутність інтрогресії ділянок геномної ДНК *T. kiharae*, охоплених даними праймерами. Застосування ISSR842 і ISSR846 (рис. 3, 4) дозволило виявити у 4-інтрогресивних ліній (TV 80, TV 84, TV 86, TV 88) компоненти, притаманні *T. kiharae*. Так, у зразків TV 67 і TV 84 ампліфіковано фрагмент *T. kiharae* розміром ~1750 пн, який детектується з використанням праймера ISSR842.

Обговорюючи отримані результати, можна констатувати, що відмінності батьківських форм за ISSR-маркерами були

незначними (всього в аналіз залучено 4 поліморфних локуси, характерні для батьківських форм). Хромосомна локалізація цих маркерів невідома. Таким чином, ділянка виявлення чужорідного генетичного матеріалу є обмеженою.



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Рис. 4. Спектри ампліконів ДНК, одержані за допомогою праймера ISSR842: 1 – *T. aestivum* сорт Харківська 26; 2 – *T. kiharae*; 3 – TV 46; 4 – TV 60; 5 – TV 62; 6 – TV 64; 7 – TV 67; 8 – TV 74; 9 – TV 77; 10 – маркер молекулярної маси 1 kb DNA ladder; 11 – TV 80; 12 – TV 84; 13 – TV 86; 14 – TV 88; 15 – SpSe1

При порівнянні результатів, одержаних за допомогою двох груп молекулярних маркерів, виявляється, що у даному конкретному випадку спектри запасних білків є інформативнішими, ніж ISSR-маркери, що базуються на використаних нами праймерах ISSR842, ISSR846, ISSR857 та ISSR2. Доцільнішим має бути використання ДНК-маркерів із відомою хромосомною локалізацією, до яких можна віднести SSR-маркери. Для цього має бути використано по 3–5 SSR-локусів на кожне плече хромосоми.

Висновки

Інтрогресивні форми, константні за морфологічними ознаками, одержані шляхом відбору трансгресивних форм у потомстві гібридів м'якої пшениці Харківська 26 з *T. kiharae* та *T. miguschovae*, є гетерогенними, що, ймовірно, пов'язано з високим рівнем перехресного запилення в ранніх поколіннях після гібридизації.

У більшості цих форм виявлено інтрогресію від *T. kiharae* за локусами запасних білків *Gli-A1*, *Gli-D1*, *Glu-D1*. Це свідчить про можливість рекомбінації між субгено-

мами *A^u* м'якої пшениці (від *T. urartu*) та *A^b* *T. kiharae* (від *T. boeoticum*) та між субгенами *D* м'якої пшениці (від *Ae. tauschii subsp. strangulate* (Eig) Tzvel.) та *T. kiharae* (від *Ae. tauschii subsp. tauschii*).

Запасні білки, що кодуються алелем локусу *Gli-G1* від *T. miguschovae* та алелем локусу *Glu-G1* від *T. kiharae*, виявлені лише у одиничних форм.

Використання праймерів ISSR842, ISSR846, ISSR852 і ISSR2 дозволяє виявляти інтрогресії генетичного матеріалу від *T. kiharae* та *T. miguschovae* у генотип м'якої пшениці. Але їхнє використання є менш ефективним для визначення локалізації інтрогресій і відмінностей між гібридними формами.

Перелік літератури

1. *Пшеницы мира* : монография [Дорофеев В. Ф., Удачин. Р. А., Семёнова Л. В. и др.]. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 560 с.
2. *Жиров Е. Г., Терновская Т. К.* Геномная инженерия у пшеницы // Вестник с.-х. науки. – 1984. – № 10. – С. 58–66.
3. *Жиров Е. Г.* Синтез новой гексаплоидной пшеницы // Тр. по прикл. бот., генет. и селекции – 1980. – Т. 68. – Вып. 1. – С. 14–16.
4. *Созинов А.А.* Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М.: Наука, 1985. – 272 с.
5. *Злацкая А.В., Антонюк М.З., Терновская Т.К., Созинов А.А.* Биохимические маркеры *Triticum miguschovae* Zhiron // Генетика. – 1999. – Т. 35, № 5. – С. 650–656.
6. *Злацька А.В.* Значення специфічності генетичного матеріалу для успішної інтрогресії у геном м'якої пшениці (на прикладі інтрогресивних ліній *Triticum aestivum* L./*T. miguschovae* Zhiron) : автореф. дис. ... канд. біол. наук : спец. 03.00.15 «Генетика». – К., 2001. – 19 с.
7. *Козуб Н. А., Созинов И. А.* Особенности расщепления по аллелям глиадинкодирующего локуса *Gli-B1* у гибридов озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 2000. – Т. 34, № 2. – С. 69–76.
8. *Kozub N.A., Sozinov I.A., Sobko T.A., Kolyuchii V.T., Kuptsov S.V., Sozinov A.A.* Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine // Цитология и генетика. – 2009. – Т. 43, № 1. – С. 69–77.
9. *Metakovsky E.V.* Gliadin allele identification in common wheat. II Catalogue of gliadin alleles in common wheat // J. Genet. Breed. – 1991. – Vol. 45. – P. 325–344.
10. *Laemmli U.K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – Vol. 227, № 5259. – P. 680–685.
11. *Payne P., Lawrence G.* Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat // Cereal Res. Commun. – 1983. – Vol. 11, № 1. – P. 29–34.
12. *Goncharov N.P., Bannikova S.V., Kawahara T.* Wheat artificial amphiploids involving the *Triticum timopheevii* genome: their studies, preservation and reproduction // Genetic Resources And Crop Evolution – 2007. – Vol. 54, № 7. – P. 1507–1516.
13. *Обухова Л.В.* Высокомолекулярные субъединицы глютелина у образцов пшениц – доноров иммунитета к грибным инфекциям. – Вестник ВОГиС. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 734–739.
14. *Ausubel F. M., Brent R., Kingston R. E. et al.* Current protocols in molecular biology. – N.Y.: John Wiley & Sons, 1987. – P. 4.3.1–4.3.3.
15. *Brody J.R., Calhoun E.S., Gallmeier E. et al.* Ultrafast high-resolution agarose electrophoresis of DNA and RNA using low-molarity conductive media // Biotechniques. – 2004. – Vol. 37, № 4. – P. 598–602.
16. *Tantasawata P., Trongchuen J., Prajongjai T., et al.* Variety identification and genetic relationships of mungbean and blackgram in Thailand based on morphological characters and ISSR analysis // African Journal of Biotechnology. – 2010 – Vol. 9. – № 27. – P. 4452–4464.
17. *Tantasawata P., Trongchuena J., Prajongjaia T., et al.* Variety identification and comparative analysis of genetic diversity in yardlong bean (*Vigna unguiculata* spp. *sesquipedalis*) using morphological characters, SSR and ISSR analysis // Scientia Horticulturae. – 2010 – Vol. 124, № 2. – P. 204–216.

Представлено Т.К. Терновською
Надійшла 31.05.2011

ОСОБЕННОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ
ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА
TRITICUM KIHARAE DOROF. ET MIGUSCH.
И *T. MIGUSCHOVAE* ZHIROV В ЛИНИЯХ
ОТ СКРЕЩИВАНИЙ С МЯГКОЙ ПШЕНИЦЕЙ

Е. В. Твердохлеб¹, Н. А. Козуб^{2,3}, И. А. Созинов²,
Р. Л. Богуславский¹

¹Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева
НААН Украины
Национальный центр генетических ресурсов рас-
тений Украины
Украина, 61060, Харьков, Московский проспект,
142
e-mail: etverd@meta.ua

² Институт защиты растений НААН Украины
Лаборатория экологической генетики растений и
биотехнологии
Украина, 03022, Киев, ул. Васильковская, 33
e-mail: sia1953@mail.ru

³ ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геноми-
ки НАНУ Украины»
Лаборатория молекулярной генетики растений
Украина, 4123, Киев, ул. Осиповского, 2а

У форм мягкой пшеницы, трансгрессивных по признакам продуктивности, полученных от скрещиваний мягкой яровой пшеницы с *T. kiharae* и *T. miguschovae*, определяли присутствие интрогрессированного генетического материала амфиплоидов с использованием электрофоретического анализа глиадинов и глютеинов и ISSR-маркеров. У большинства образцов интрогрессии от *T. kiharae* идентифицированы по локусам запасных белков *Gli-A1*, *Gli-D1*, *Glu-D1*. У единичных форм выявлены белковые компоненты *T. kiharae* и *T. miguschovae*, кодируемые аллелями локусов *Glu-A1*, *Gli-G1* и *Glu-G1*. Использование праймеров ISSR842 и ISSR846 позволило выявить у интрогрессивных форм компоненты, присутствующие *T. kiharae*. Праймеры ISSR852 и ISSR2 оказались неэффективными для маркирования интрогрессий.

Ключевые слова: пшеница, *T. kiharae*, *T. miguschovae*, интрогрессия, молекулярные маркеры, глиадин, глютеин, праймеры, ISSR.

FEATURES OF *TRITICUM KIHARAE* DOROF.
ET MIGUSCH. AND *T. MIGUSCHOVAE* ZHI-
ROV GENETIC MATERIAL INHERITANCE IN
CROSSES WITH BREAD WHEAT

E.V. Tverdokhle¹, N.A. Kozub^{2,3}, I.A. Sozinov²,
R.L. Boguslavsky¹

¹ Plant Production Institute nd.a. V.Ya. Yuryev NAAS
of Ukraine
National Centre for Plant Genetic Resources of
Ukraine
Ukraine, 61060, Kharkiv, Moskovsky Ave, 142
e-mail: etverd@meta.ua

² Institute of Plant Protection NAAS of Ukraine
Laboratory of Plant Ecological Genetics and
Biotechnology
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasyli'kivs'ka Str., 33
e-mail: sia1953@mail.ru

³ SI «Institute of Food Biotechnology and
Genomics NAS of Ukraine»
Laboratory of Plant Molecular Genetics
Ukraine, 4123, Kyiv, Osipovskogo Str., 2a

In the forms of bread wheat derived from crosses of spring bread wheat with *T. kiharae* and *T. miguschovae*, which are transgressive for productivity traits, presence of genetic material introgressed from amphiploids was detected using electrophoretic analysis of gliadin and glutenin and ISSR markers. In the majority of forms, introgression from *T. kiharae* was identified at the storage protein loci *Gli-A1*, *Gli-D1*, *Glu-D1*. In single forms, storage proteins of *T. kiharae* and *T. miguschovae* encoded by alleles at the loci *Gli-G1*, *Glu-A1*, *Glu-G1* were revealed. The use of primers ISSR842 and ISSR846 allowed to reveal components inherited from *T. kiharae* in the introgressive forms. The primers ISSR852 and ISSR2 proved to be ineffective for marking introgressions.

Key words: wheat, *T. kiharae*, *T. miguschovae*, introgression, molecular markers, gliadin, glutenin, primers, ISSR.