

ОДНОРІДНІСТЬ ТА ГЕТЕРОГЕННІСТЬ ГЕНОТИПІВ В ПРОЦЕСІ ДОБАЗОВОГО НАСІННИЦТВА СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ (TRITICUM AESTIVUM L.)

Литвиненко М.А., Литвиненко Д.М., Щербина З.В., Ігнатовський О.О.
Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення,
Україна

Розроблено систему поетапної ідентифікації сортів пшениці м'якої озимої з використанням визначених на першому етапі – найбільш інформативних і стабільних восьми морфометричних та 16 якісно альтернативних ознак; на другому етапі – за біохімічними маркерами; на третьому етапі – за молекулярними маркерами алельного стану мікросателітних локусів. За цією системою ознак пропонується шкала визначення рівня гетерогенності сорту в зростаючому порядку від 0 до 9 балів. Розглянуто конкретні приклади ідентифікації сортів у процесі їх добазового насінництва.

Ключові слова: пшениця м'яка озима, сорт, ідентифікація, ознака, біохімічний молекулярний маркер, однорідність, гетерогенність

Вступ. Існує уявлення про сорт самозапильних культур як сукупність однакових особин (рослин), що орієнтує селекціонера на лінійну селекцію і добір одного генотипу за морфологічними ознаками, продуктивністю, якістю продукції, стійкістю до біотичних та абіотичних стресових факторів. Водночас еволюційна генетика [1] свідчить, що генетичною основою пластичності виду є властива йому гетерогенність (генетичний поліморфізм), а елементарною еволюційною одиницею – сукупність відмінних організмів.

Аналіз літературних джерел, постановка проблеми. У практичній селекції створюються сорти як однолінійні, так і багатолінійні, чітка відповідь на питання про недоліки і переваги тих чи інших сортів відсутня.

Відомий приклад широкого розповсюдження на мільйонах гектарів упродовж 1959–1970 рр. у країнах колишнього Радянського Союзу і Східної Європи сорту пшениці м'якої озимої Безоста 1, який був виділений академіком П.П. Лук'яненком із гетерогенного сорту Безоста 4 [2]. Інший приклад впровадження на великих територіях у той же період у більш північних регіонах Радянського Союзу і Європи знаменитого сорту Миронівська 808, створеного академіком В.М. Ремеслом [3]. За даними спеціальних досліджень цей сорт відноситься до гетерогенних.

Великим успіхом вітчизняної селекції було створення академіком Д.О. Долгушиним багатолінійного сорту Одеська 51 [4], який займав у 1969–1985 рр. в Україні і за її межами 1,5–3,2 млн. га щорічно, а пізніше створення академіком М.А. Литвиненком якісно нового сорту короткостеблого типу, шедевра української селекції Альбатроса одеського [5], який також відноситься до багатолінійних і висівався в період 1990–2005 рр. на площі від 1,5 до 4,5 млн. га щорічно.

Враховуючи високу гетерогенність сортів Одеська 51 і Альбатрос одеський, їх автори здійснили з цими сортами перехід від традиційної схеми первинного насінництва до схеми насінництва багатолінійних сортів [4, 5, 6]. Подібні маніпуляції з генетичного контролю ліній, вивчення їх композитного складу проводили на відомому високогетерогенному сорті Селянка [7], який також займав у виробництві значні площі впродовж майже десятирічного періоду (2000–2010 рр.).

Метод створення багатолінійних сортів було розроблено в СІММУТ лауреатом Нобелівської премії, автором «зеленої революції» Н. Борлаугом як ефективний спосіб забезпечення довготривалої стійкості до стеблової іржі в ярої пшениці [8]. Переконаливим прикладом позитивної ролі гетерогенності в стабілізації врожайності при значному варіюванні екологічних умов є дані державного сортовипробування в період 1992–1994 рр. сорту Українка одеська, який був виділений як лінія 216/89 із багатолінійного сорту Альбатрос одеський [6]. Цей сорт у роки державного сортовипробування Українки одеської був національним стандартом, тому була можливість парного порівняння врожайності обох сортів на 52 сортовипробувальних станціях, а протягом трьох років в 152 сортодільницях. Було виявлено, що за великого розмаху мінливості врожайності – від 2,49 до 9,82 т/га однолінійний сорт Українка одеська мав суттєві переваги над багатолінійним сортом Альбатрос одеський тільки за врожайності понад 5,0 т/га від 3,6 % до 17,8 %, з тенденцією збільшення переваг із зростанням урожайності. Це підтверджує і характер мінливості врожайності, виражений шляхом парного порівняння через коефіцієнт кореляції. Суттєві зростаючі значення цього коефіцієнта ($r = 0,456-0,65$) спостерігали також за врожайності 5,0 т/га. Стабільність урожайності, виражена як коефіцієнт регресії врожайності на умови середовища у сорту Українка одеська, була 0,86, що нижче, ніж у Альбатроса одеського (1, 23), це підтверджує і коефіцієнт варіювання – 28,6 % і 19,5% відповідно.

У наведених прикладах сорти пшениці вирізнялись за рівнем гетерогенності, а багатолінійність створювалась різними методами, проте, у всіх випадках досягнуто одного і того ж ефекту підвищення стійкості сортів до біотичних та абіотичних стресових факторів і стабільності врожайності у варіюючих екологічних та агротехнічних умовах.

Враховуючи сучасні вимоги до сортів у зв'язку із входженням України до міжнародних організацій ISTA, UPOV, OESD і прийняття правил правового захисту селекційних досягнень за ознаками відмінності, однорідності та стабільності (ВОС–тест) важливо виявити можливості виконання цих вимог при створенні сортів та досягнення однорідності в процесі добазового насінництва пшениці м'якої озимої. Актуальність даного дослідження визначається тим, що біоценогенетичні взаємодії біотипів (ліній) у сортів з різним рівнем гетерогенності є необхідною умовою розробки теорії ведення та удосконалення методики первинного насінництва.

Мета і задачі дослідження – вдосконалення системи ідентифікації сортів та визначення їх рівня гетерогенності у процесі первинного насінництва.

Матеріал і методи. Польові дослідження виконано у відділі селекції і насінництва пшениці Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннезнавства та сортовивчення (СГІ – НЦНС) впродовж 2006–2018рр. у процесі реалізації програми добазового насінництва 48 комерційних сортів (в державному Реєстрі в цей період) пшениці м'якої озимої. Добазове насінництво здійснювали за загальноприйнятими схемами і методиками, а в процесі досліджень із внесеними нами модифікаціями (предмет дослідження) в залежності від установленого рівня гетерогенності сорту. Розгортання добазового насінництва розпочинали, як правило, в рік передачі сорту на державне сортовипробування. За вихідний матеріал було використано також колекційні зразки в кількості 86 сортів пшениці м'якої озимої вітчизняного і закордонного походження. Ідентифікацію сортів здійснювали щорічно за всіма 35 ознаками, які визначено в «Методичі проведення експертизи та державного сортовипробування» [9]. Електрофорез запасних білків провадився у відділі генетичних основ селекції СГІ – НЦНС (О.І. Рибалка) а молекулярно-генетичний аналіз мікросателітних локусів – у різні періоди у Південному біотехнологічному центрі (Ю.М. Сиволап) та у відділі загальної та молекулярної генетики (В.І. Файт).

Обговорення результатів. За системою UPOV для ідентифікації сорту пшениці рекомендовано 35 ознак, які характеризують всі частини пшеничної рослини впродовж вегетаційного періоду [9]. Вивчення цих ознак у 2011–2012 рр. в ланках первинного насінництва комерційних сортів, а також колекційних зразків пшениці м'якої озимої дозволило розподілити ознаки на дві групи: морфометричні – дев'ять; якісно альтернативні – 26. Їх вивчення і залік потребує доволі високої фахової підготовки спеціалістів і є дуже трудоміст-

ким процесом як за обсягами, так і тривалістю досліджень. Ці ознаки мають різний рівень фенотипового варіювання і різною мірою змінюються під впливом метеорологічних факторів року та умов вирощування рослин (агрофон, строки, норми і способи сівби і т. д.) [10, 11]. Тому в методиці Українського інституту експертизи сортів рослин з ідентифікації сортів за кожною ознакою наведено шкали їх прояву в балах відносно сортів-еталонів. Для спрощення і прискорення цієї роботи нами виділено ознаки, які за стабільністю фенотипового прояву, доступністю і простотою заліку в первинних ланках насінництва обрано для ідентифікації сортів і виявлення генетичної гетерогенності (табл. 1).

Таблиця 1.

Найбільш інформативні і доступні для обліку ознаки в системі ідентифікації та встановлення рівня гетерогенності сортів озимої м'якої пшениці в різних ланках первинного насінництва

Ознака (морфологічна)	Коефіцієнт варіації, %	Ознака (якісно альтернативна)	Ступінь прояву
1. Рослина – за висотою	26,3	1. Колеоптиль (забарвлення)	0–9
2. Колос – за довжиною(без остюків і зубців)	8,4	2. Прапорцевий листок – антоціанове забарвлення	0–9
3. Зубці або остюки на верхівці колоса – за довжиною	14,2	3. Початок колосіння	1–3
4. Нижня колоскова луска – ширина плеча	26,3	4. Соломина – виповнення (розріз між основою колосу і найближчим вузлом)	0–7
5. Нижня колоскова луска – довжина зубця (колосок в середині колоса)	24,3	5. Колос (форма) – вигляд з боку	1–5
6. Зернівка – за довжиною	6,3	6. Колос – за щільністю	1–9
7. Зернівка – за шириною	4,7	7. Остюки або зубці нижніх квіткових лусок	1–3
8. Зернівка – відношення L/V	6,3	8. Колос – колір	1–4
		9. Нижня колоскова луска – форма	1–3
		10. Нижня колоскова луска – форма плеча	1–5
		11. Нижня колоскова луска – форма рубця	1–9
		12. Нижня квітова луска – форма зубця	1–5
		13. Зернівка – колір	1–2
		14. Забарвлення в фенолі	0–9
		15. Тип розвитку	1–3
		16. Нижня квітова луска – кіль	1–2

Щоб ідентифікувати сорт за ВОС-тестом (відмінність, однорідність, стабільність) та виявити за необхідності ступінь гетерогенності сорту за вищенаведеними ознаками достатньо вивчати 100 ліній (потомств окремого колосся, які відбираються на посівах оригінального сорту): перший рік – у широкорядному посіву (довжина рядка 1–1,5 м, ширина міжряддя 30–45 см), в первинному насінництві це розсадник вивчення потомств першого року (РВ-1); другий рік – перевірка потомств на ділянках суцільного посіву (залікова ділянка 5–10 м²), в первинному насінництві це розсадник випробування потомств другого року (РВ-2). При великих обсягах досліджень у ланках добазового насінництва кількість залікових ознак можна скоротити за порядковими номерами в таблиці 1 морфологічних ознак – 4, 5 та якісно альтернативних ознак – 1, 2, 5, 8, 9, 10, 11, 14, 15. У польових спостереженнях доцільно, крім заліку окремих ознак, у випадках чітких відмінностей ліній у гетерогенних сортах відносити їх до умовно виділених морфотипів, які позначають цифрами, буквами чи символами. Такі морфотипи є найбільш помітними візуально при суцільному

посіви ліній на ділянках 5–10 м² (РВ-2). Контрастні морфотипи виявляють у «молодих» (тільки створені сорти, які не пройшли опрацювання в ланках первинного насінництва) високогетерогенних сортів. Вони, як правило, виділяються на базі гібридів від парних схрещувань генетично віддалених сортів і ліній при одноразовому індивідуальному доборі із гібридних популяцій F₂–F₃. Такі сорти, по суті, є генетично збалансованими популяціями і при суцільному посіві створюють враження повної однорідності за морфологічними ознаками. Тільки при посіві ліній із цих сортів у ланках доbazового насінництва виявляється їх генетична дивергенція і різноякісність як за комплексом морфометричних і біологічно-, так і за цінним господарськими ознаками і властивостями. Методи і прийоми доведення високогетерогенних сортів до прийняттого рівня морфометричної однорідності буде розглянуто в окремій публікації.

У нових сортів, первинне насінництво яких тільки починається, виявлені морфотипи необхідно ідентифікувати за найбільш інформативними морфометричними чи якісно-альтернативними ознаками, а також за ознаками і властивостями, які потребують використання спеціальних методів вивчення. До таких характеристик відносяться показники якості зерна, стійкість до хвороб і шкідників, морозо-, зимостійкість і посухо-жаростійкість, біохімічні і фізіологічні чинники, пов'язані з якістю зерна та стійкості до біотичних і абіотичних факторів. На завершальному етапі ідентифікації важливо встановити врожайність кожної лінії в насінневому розсаднику РВ-2 і виявити відмінності кожного морфотипу за врожайністю. Об'єктивні висновки щодо виявлених відмінностей можна зробити тільки за результатами спостережень передачі цих відмінностей потомству, тобто встановити їх стабільність.

Складність вивчення всіх вищеназваних ознак і властивостей для виявлення генетичної дивергенції генотипів у досліджуваних сортів обумовлюється їх великою мінливістю під дією факторів зовнішнього середовища (паратипова мінливість). У таблиці 2, як приклад, наведено величини і мінливість деяких ознак і властивостей у рендомізовано відібраних ліній у насінневому розсаднику РВ-2 двох контрастних сортів за рівнем гетерогенності. За суттєвими відмінностями приведених та інших морфометричних характеристик у сорту Писанка ідентифікується шість морфотипів (кожна лінія – окремий морфотип), що свідчить про його високу гетерогенність. Лінії сорту Антонівка не мають статистично достовірних відмінностей за жодною з вивчених ознак і властивостей, що дозволяє вже на цьому етапі досліджень стверджувати, що цей сорт є однорідним. Крім цього, навіть у ліній спостерігається високий рівень фенотипової мінливості ознак (виражається через коефіцієнт варіації V, %), що не завжди дає можливість виявити гетерогенність сорту.

Таблиця 2.

Характеристика ліній в межах сортів пшениці м'якої озимої за рівнем гетерогенності

№ лінії, сорту	Показник	Висота рослин, см	Довжина колоса без остюків і зубців, мм	Нижня колоскова луска: довжина, мм	Нижня колоскова луска: довжина зубця, мм	Співвідношення довжини до ширини зернівки	Початок колосіння, дата	Морозостійкість, % живих рослин	Седиментація, SDS-30, мл	Урожайність, т/га
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Сорт Писанка – високогетерогенний										
1	X	92,3	77,6	14,3	5,1	1,9	14.05	69,7	72	8,04
	V, %	6,9	7,7	9,3	15,3	3,9				
3	X	91,6	78,4	15,2	5,3	2,1	14.05	65,4	76	8,31
	V, %	6,5	8,2	8,2	15,8	3,3				
5	X	112,6	96,5	15,0	5,6	2,0	16.05	81,9	80	7,65
	V, %	7,2	8,4	9,7	20,2	2,4				

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
6	X	100,6	86,4	14,8	5,3	2,1	15.05	77,4	74	8,23
	V, %	8,4	8,1	8,8	19,5	3,1				
7	X	98,4	86,9	13,7	4,4	2,1	15.05	77,4	76	8,36
	V, %	7,8	7,3	8,9	14,8	3,6				
9	X	110,7	94,3		7,6		16.05			
	V, %	9,2	8,2	14,9	17,6	3,5				
	НІР ₀₀₅	11,3	8,4	2,2	0,8	0,03		8,4	4,3	
Сорт Антонівка – однорідний										
6	X	91,8	97,3	13,3	4,1	2,0	14.05	78,4	68	8,45
	V, %	6,4	5,6	8,3	15,8	3,4				
8	X	92,2	96,8	13,1	4,0	2,1	14.05	76,2	70	8,65
	V, %	6,3	5,2	8,6	15,1	3,8				
17	X	90,7	97,1	13,0	3,9	2,2	14.05	78,8	72	8,28
	V, %	6,5	5,3	8,1	15,4	3,8				
20	X	91,8	97,5	13,0	3,8	2,1	14.05	74,5	74	8,56
	V, %	6,8	5,9	8,9	15,1	3,4				
21	X	92,6	98,8	13,0	3,7	2,1	14.05	76,2	65	8,23
	V, %	6,4	6,3	8,5	14,9	3,1				
27	X	90,7	97,4	13,1	3,9	2,1	14.05	78,1	67	9,64
	V, %	6,5	5,9	8,3	15,3	3,7				
	НІР ₀₀₅	8,2	2,3	0,8	0,3	0,02		3,6	3,9	0,28

У зв'язку з цим для ідентифікації генотипів більшого значення набувають методи біохімічної і молекулярної генетики, за допомогою яких можливо контролювати стан окремих локусів хромосом чи геномів пшениці, маркери на їх основі не змінюються під впливом умов вирощування рослин [12].

Так, у практиці первинного насінництва СГІ – НЦНС для виявлення сортової чистоти використовується метод електрофорезу запасних білків (гліадинів, глютелинів). Виявлено, що ряд сортів селекції СГІ – НЦНС, які за результатами ідентифікації в ланках первинного насінництва за морфометричними ознаками було визначено як достатньо однорідні, за електрофоретичними спектрами показали наявність двох і більше біотипів (табл.3).

Із досліджених 86 зразків пшениці м'якої озимої (63 зразки селекції різних установ України і 23 зразки закордонного походження) розклад за станом гліадин та глютенінкодуєчих локусів має такий вигляд: кількість зразків з одним біотипом (однотипні) – 27 шт. (31,4 %); з двома біотипами – 30 шт. (34,9 %); з трьома біотипами – 13 шт. (15,1 %); з чотирма біотипами – 10 шт. (11,6 %); з п'ятьма біотипами і більше – 6 шт. (7,0 %). У групі однотипних сортів – 11 шт. (12,8 %) вітчизняних і 16 шт. (18,6 %) закордонних, що у відсотках до окремих груп за походженням – 17,5 % однотипних в групі вітчизняних сортів і 69,6 % – закордонних.

Звичайно, гліадин-глютенінкодуєчі локуси знаходяться в шести хромосомах пшениці (1A, 1B, 1D, 6A, 6B, 6D) та їх стан не може відображати генотип сорту повністю. Із вивчених 42 сортів, які в теперішній час знаходяться в державному Реєстрі сортів рослин України, виявлено 11 сортів (26,2 %) які мають абсолютно однакові формули електрофорезу запасних білків, але відрізняються за походженням і мають значні сортові відмінності за морфометричними і агрономічними ознаками та властивостями. Цей метод можна використовувати для контролю сортової чистоти та біотипного складу уже відомих сортів у первинному насінництві. Для ідентифікації невідомих, нових сортів метод електрофорезу може слугувати як додатковий до вже розглянутих морфометричних і якісно альтернативних ознак.

Для ідентифікації генотипів, які відрізняються або мають близькі характеристики фенотипових ознак і однакові формули запасних білків, доцільно вдаватися до молекулярно-генетичних методів [13].

**Генетичні формули та біотипи сортів озимої пшениці СГІ – НЦНС за станом
гліадин- та глютенінкодуєчих локусів**

Сорт	Біотип	Гліадин					Глутенін				
		1A	1B	1D	6A	6B	6D	2-1A	1A	1B	1D
Красуня одеська	1	4	1	5	3	2	2	3	1	2	1
	2	4	1	5	3	3	2	3	1	2	1
Лузанівка	1	4	2	7	3	2	4	1	2	1	1
	2	5	2	7	3	2	4	1	2	1	1
Сирена одеська	1	2	1	1	4	2	3	3	2	2	1
	2	4	1	1	4	2	3	3	2	2	1
Пріма одеська	1	5	4	1	4	2	4	3	1	2	1
	2	5	2	1	4	2	4	3	1	2	1
Вікторія одеська	1	4	1	5	3	2	2	3	1	1	1
	2	4	1	5	3	2	2	3	1	2	1
	3	4	1	5	4	2	2	3	1	1	1
	4	4	1	5	4	2	2	3	1	2	1
Застава	1	4	4	4	3	2	1	1	1	2	1
	2	4	4	4	3	2	1	1	1	3	1
	3	4	4	4	3	2	4	1	1	2	1
	4	4	4	4	3	2	4	1	1	3	1
Лада	1	2	1	4	3	2	1	1	2	1	1
	2	2	1	4	3	2	4	1	2	1	1
	3	4	1	4	3	2	1	1	2	1	1
	4	4	1	4	3	2	4	1	2	1	1
Фантазія одеська	1	4	1	5	4	2	2	3	1	2	1
	2	4	1	5	4	2	3	3	1	2	1
	3	4	1	5	4	3	2	3	1	2	1
	4	4	1	5	4	3	3	3	1	2	1
Любава одеська	1	4	1	1	3	1	1	3	2	1	1
	2	4	1	1	3	1	1	3	2	2	1
	3	4	1	4	3	1	1	3	2	1	1
	4	4	1	4	3	1	1	3	2	2	1
	5	4	2	1	3	1	1	3	2	1	1
	6	4	2	1	3	1	1	3	2	2	1
	7	4	2	4	3	1	1	3	2	1	1
	8	4	2	4	3	1	1	3	2	2	1

У відділі загальної і молекулярної генетики СГІ – НЦНС дослідили алельний стан 11 мікросателітних локусів (МС) трьох груп сортів, які за морфометричними ознаками та формулами електрофорезу запасних білків мали однакові або близькі характеристики:

- перша група – Господиня, Благодарка одеська;
- друга група – Єдність, Істина одеська;
- третья група – Литанівка, Дальницька.

Виявлено, що з першої групи сорт Господиня показав гетерогенність за локусами Xqwm 165/1-4D, Xqwm-18-1B, Xqwm 357-1A; сорт Благодарка одеська – за локусами Xqwm 357-1A, Xqwm 325-6D, Xqwm 165/1-4D. У сортів другої групи, Єдність та Істина одеська, визначено гетерогенність лише за одним з тестових локусів, Xqwm 065-2A і Xqwm 155-3A, відповідно. Тільки сорти третьої групи Литанівка і Дальницька виявились гомогенними за даними аналізу 11 локусів.

У другій серії експериментів продовжено дослідження на 50 сортах з метою оптимізації системи ідентифікації та контролю генотипів за молекулярними маркерами. Набір сортів вивчали за допомогою мікросателітних локусів (МС-аналіз). У дослідженні 50 сортів за 17 мікросателітними локусами виявлено загалом 110 алелів, у середньому на досліджений локус припадало 6,5 алеля (табл. 4).

Кількісний склад алелів у досліджених локусах

Локус	Хромосома	Алель	РІС
Xgwm 186	5A	9	0,68
Xgwm 095	2A	5	0,64
Xgwm 357	1A	7	0,76
Xgwm 18	1B (4B)	5	0,74
Xgwm 190	5D	2	0,46
Xgwm 3	3D (2D)	7	0,82
Xgwm 165/1	4D (4A, 4B)	5	0,71
Xgwm 155	3A	10	0,84
Xgwm 437	7D	4	0,55
Xgwm 389	3B	7	0,82
Xgwm 325	6D	11	0,81
Xgwm 44	7D (4A)	6	0,62
Xbare 126	7D	9	0,74
Xwmc 405	7D (1D, 5B, 7A)	6	0,61
Xgwm 408	5B	7	0,64
Xgwm 577	7B	5	0,62
Taglgap	1B	5	0,50

Усього було сформовано три набори маркерів, які доцільно використовувати в залежності від складності ідентифікації. Розроблено матриці подібності сортів (табл. 5).

Фрагмент матриці схожості – число локусів з ідентичними алелями за 17 дослідженими МС-маркерами

Сорт	Господиня	Скарбниця	Косовиця	Антонівка	Заможність	Благодарка одеська	Місія одеська	Дальницька	Єдність	Кірія	Ліона	Куяльник
Господиня	17	8	7	5	6	5	7	5	5	9	5	12
Скарбниця	8	17	7	7	7	7	7	6	4	6	7	9
Косовиця	7	7	17	8	7	6	7	9	4	6	10	8
Антонівка	5	7	8	17	7	6	6	6	5	4	5	6
Заможність	6	7	7	7	17	8	6	7	6	7	8	6
Благодарка одеська	5	7	6	6	8	17	7	6	4	6	9	7
Місія одеська	7	7	7	6	6	7	17	5	6	7	7	8
Дальницька	5	6	9	6	7	6	5	17	9	8	7	6
Єдність одеська	5	4	4	5	6	4	6	9	17	4	6	5
Кірія	9	6	6	4	7	6	7	8	4	17	7	9
Ліона	5	7	10	5	8	9	7	7	6	7	17	7
Куяльник	12	9	8	6	8	7	8	6	5	9	7	17

Отже, з наведених результатів досліджень чітко простежується поетапна система ідентифікації сортів пшениці м'якої озимої: перший етап – за восьми морфометричними і 16 якісно альтернативними ознаками; другий етап – за біохімічними маркерами; третій етап – за молекулярними маркерами стану мікросателітних локусів. За цією системою пропонується шкала визначення рівня гетерогенності сорту:

1. Якщо зі 100 вивчених ліній в РВ-1 і РВ-2 не встановлено відмінностей за жодним з виявлених на трьох етапах ідентифікації ознак і маркерів, сорт слід вважати абсолютно однорідним. Такий сорт оцінюється за рівнем гетерогенності – 0 балів.

2. Виявлення у сорту відмінностей в 1–3 лініях зі 100 вивчених у РВ-1, РВ-2 тільки за 1–3 морфометричними чи якісно альтернативними ознаками, які можуть бути результатом механічного чи біологічного засмічення або мінливості ознак за впливу умов вирощування рослин при повній однорідності за іншими ознаками і маркерами, також дозволяє віднести його до однорідних сортів з рівнем гетерогенності 1 бал.

3. Наявність у сорту відмінностей за ознаками морфофізіологічного характеру, за якими лінії можна поділити на окремі 2–3 біотиби, але вони не ідентифікуються за біохімічними і молекулярними маркерами, дають підстави віднести сорт до низькогетерогенних – 2–3 бали.

4. Виявлені в сорту відмінності за морфофізіологічними ознаками, які поділяють лінії на чотири і більше біотипів, але не ідентифікуються за біохімічними і молекулярними маркерами, дозволяють віднести його до середньогетерогенних – 4–6 балів.

5. Сорти, у яких за комплексом морфометричних і якісно альтернативних ознак лінії можна поділити на чотири і більше біотипів, які частково або повністю ідентифікуються біохімічними або молекулярними методами, треба вважати високогетерогенними – 5–9 балів.

6. До окремої групи можна віднести сорти, які за візуальними спостереженнями та заліками морфофізіологічних характеристик показують повну однорідність ліній, а за біохімічними і молекулярними маркерами виявляють два і більше генотипів. Такі сорти можна віднести до візуально однорідних.

За цією комплексною шкалою рівня гетерогенності класифіковано 86 сортів вітчизняного і закордонного походження: 12 сортів (14 %) – повністю однорідні (0–1 бал); 22 сорти (25,6 %) – низькогетерогенні (2–3 бали); 36 сортів (41,8 %) – середньогетерогенні (4–6 балів); 16 сортів (18,6 %) – високогетерогенні (5–9 балів). До групи повністю однорідних сортів увійшли 11 сортів закордонних та один сорт вітчизняної селекції. Слід звернути увагу, що 48 зразків (55,8 %) українського походження за біохімічними і молекулярними маркерами відносяться до середньо- або високогетерогенних. Водночас всі ці сорти можна віднести до шостої групи – візуально однорідних. Тобто вони проявляють однорідність за морфофізіологічними ознаками і властивостями та відповідають ВОС тесту. Український інститут експертизи сортів за цим тестом допускає до Реєстру і поширення в Україні не лише сорти першої і другої групи запропонованої нами шкали рівня гетерогенності (повністю однорідні) алей, без використання біохімічних і молекулярних методів, сорти шостої групи – візуально однорідні. Мабуть, цим пояснюється, що значна частка сортів у державному Реєстрі має у своєму складі два і більше генотипів за електрофоретичними формулами та проявляють високу гетерогенність за молекулярними маркерами. Враховуючи вимоги ринку щодо правового захисту сортів і насіння, надзвичайно актуальним є налагодження паспортизації сортів у системі державного сортовипробування за молекулярними маркерами. Але це буде можливим лише тоді, коли на державне сортовипробування будуть передаватись виключно повністю гомогенні сорти. Завдання досягнення такої гомогенності вирішуються за використання відповідних методів і схем селекції, а також в процесі добазового насінництва. Цьому питанню буде присвячено окрему статтю.

Тут вважаємо за необхідне застерегти, що при переході на повністю гомогенні (однорідні) сорти озимої пшениці можливе зниження їх екологічної пластичності та адаптивності, що має прямий зв'язок з гетерогенністю [14]. За нашими багаторічними дослідженнями для України, територія якої характеризується величезним різноманіттям кліматичних, погодних (в різні роки), ґрунтових, агрономічних навіть в межах окремих зон (Степ, Лісостеп, Полісся), тільки сорти, високоадаптовані до місцевих умов, з широкою екологічною пластичністю можуть забезпечувати достатньо високий і стабільний урожай. Але немає переконливих доказів, що такі сорти не можуть бути однолінійними, відсутні, що потребує наполегливої праці селекціонерів.

Висновки. Гетерогенність сортів самозапильних культур за принципами еволюційної генетики та з досвіду створення знаменитих сортів пшениці м'якої (Миронівська 808, Одеська 51, Альбатрос одеський, Селянка) є фактором, щонайменше, розширення екологічної пластичності та можливостей реалізації генетичного потенціалу продуктивності та якості зерна в різних умовах вирощування. При цьому морфологічні ознаки ідентифікації сорту за відмінністю, однорідністю і стабільністю є обов'язковими. Вимоги до створення повністю однорідних сортів є більш юридичним фактором, значення якого виникає у зв'язку з необхідністю захисту прав на селекційні досягнення в умовах ринку сортів і насіння та входження України до Міжнародної організації з захисту прав на сорти рослин UPOV. Розроблено систему поетапної ідентифікації сортів пшениці м'якої озимої з використанням морфометричних ознак, біохімічних і молекулярних маркерів і на цій основі запропоновано шкалу визначення рівня гетерогенності сортів у зростаючому порядку від 0 до 9 балів. Ці розробки є ефективними в первинному (добазовому) насінництві сортів пшениці м'якої озимої для доведення їх до необхідного рівня однорідності.

Список використаних джерел

1. Вавилов Н.И. Селекция как наука. Теоретические основы селекции растений. М.-Л., 1936. Т. 1. Общая селекция растений. С. 17–74.
2. Лукьяненко П.П. Озимая пшеница Безостая 1. Избранные труды. Селекция и семеноводство озимой пшеницы. М.: Колос, 1973. С. 191–196.
3. Ремесло В.Н. Озимая пшеница. Мироновская 264 и Мироновская 808. М., 1964. С. 14–37.
4. Долгушин Д.А. Новый перспективный сорт озимой мягкой пшеницы Одесская 51. Научно-технический бюллетень ВСГИ. 1967. Вып. 7. С. 3–5.
5. Литвиненко Н.А. Особенности первичного семеноводства сорта озимой мягкой пшеницы Альбатрос одесский. Научно-технический бюллетень ВСГИ. 1993. № 2(84). С. 12–16.
6. Литвиненко Н.А. Из опыта семеноводства и ускоренного внедрения сортов озимой мягкой пшеницы в производство. Научно-технический бюллетень СГІ. 1995. № 1(86). С. 14–18.
7. Наконечний М.Ю., Єриняк М.І., Лифенко С.П. Технологічні якості зерна поліморфного сорту озимої м'якої пшениці Селянка. Збірник наукових праць СГІ – НЦНС. 2003. Вип. 4(44). С. 25–32.
8. Borlaug N.E. The use of multilineal of composite varieties to control airborne epidemic diseases of selfpollinated crop plants. First International wheat Genetics symposium. Winnipeg, Manitoba, Canada. 1958. P. 12–27.
9. Методика проведення експертизи та державного сорто випробування сортів рослин зернових, круп'яних та зернобобових культур. Охорона прав на сорти рослин: Офіційний бюллетень. К., 2003. Т. 2, 3, 4. С. 191–204.
10. Шпикуляк Є.А. Фенотипова мінливість ідентифікаційних сортових ознак пшениці м'якої озимої у залежності від строків сівби. Збірник наукових праць СГІ – НЦНС. 2016. Вип. 27 (67). С. 170–182.
11. Шпикуляк Є.А. Вплив способу сівби на ступінь прояву сортових морфологічних ознак пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.). Збірник наукових праць СГІ – НЦНС. 2017. Вип. 29(69). С. 35–48.
12. Рибалка О. І., Червоніс М.В., Литвиненко М.А. Генетична гетерогенність сортів пшениці одеської селекції за алейним складом Gli/Glu локусів. Вісник аграрної науки. 2008. № 2. С. 54–59.
13. Колесник О.О., Чеботар С.В., Сиволап Ю.М., Цевма В.М., Хохлов О.М., Литвиненко М.А. Принципи формування систем контролю та сортовивчення за молекулярними маркерами. Збірник наукових праць СГІ – НЦНС. 2013. Вип. 22(62). С. 142–154.
14. Литвиненко М.А. Теоретичні основи та методи селекції озимої м'якої пшениці на підвищення адаптивного потенціалу для умов степу України. Автореферат дис. ... доктора с.-г. наук.:06.01.05/Литвиненко М.А. Одеса. 2001. 46 с.

References

1. Vavilov NI. Breeding as science. Theoretical foundations of plant breeding. Moscow-Leningrad, 1936. P. 17–74.
2. Lukyanenko PP. Winter wheat Bezostaya 1. Selected works. Breeding and production. Breeding and seed production winter wheat. Moscow, 1936. P. 191–196.
3. Remeslo VN. Winter wheat Mironovskaya 264 and Mironovskaya 808. Moscow, 1964. P. 14–37.
4. Dolgushin DA. New perspective winter wheat variety Odesskaya 51. Nauchno-tekhnicheskii buleten VSIGI. 1967; 7: 3–5.
5. Litvinenko NA. Peculiarities breeding seed production winter wheat variety Albatros odesskiy. Nauchno-tekhnicheskii buleten VSIGI. 1993; 2(84): 12–16.
6. Litvinenko NA. From experience of seed production and accelerativ spreading of winter wheat varieties for agricultural production. Nauchno-tekhnicheskii buleten VSIGI. 1995; 1(86): 14–18.
7. Nakonechny MYu, Eryniak MI, Lyfenko SP. Technological grain quality of polymorphic bread winter wheat variety Selyanka. Zbirnyk naukovykh prats SGI – NCNS. 1995; 4(44): 25–32.
8. Borlaug NE. The use of multilineal of composite varieties to control airborne epidemic diseases of selfpollinated crop plants. First International wheat Genetics symposium. Winnipeg, Manitoba, Canada. 1958. P.12–27.
9. Procedure of examination and state plant variety testing cereals, grouts legume crops. Plant varieties protection. Official bulletin. Kyiv, 2003; 2, 3, 4: 191–204.
10. Shpykulyak EA. Phenotypical variability identical variety traits in bread winter in dependently on sowing date. Zbirnyk naukovykh prats SGI–NCNS. 2016; 27(67): 170–182.
11. Shpykulyak EA. The influence of sowing methods on the degree expression morphological traits in dread winter wheat. Zbirnyk naukovykh prats SGI–NCNS. 2017; 29(69): 35–48.
12. Rybalka OI, Chervonis MV, Lytvynenko MA. Genetic heterogeneity winter wheat Odessa breeding varieties of relatively allele state *Gli/Glu* loci. Visnyk agrarnoyi nauky. 2008; 2: 54–59.
13. Lytvynenko MA. The principles of formation of control system and seed investigation by molecular marker. Zbirnyk naukovykh prats SGI–NCNS. 2013; 22(62):142–154.
14. Lytvynenko MA. Theoretical basis end breeding methods of bread winter wheat for increasing adaptive potential under Ukrainian step condition. [dissertation]. [Odessa, Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation, Ukraine]. 2001.

ОДНОРОДНОСТЬ И ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ГЕНОТИПОВ В ПРОЦЕССЕ ДОБАЗОВОГО СЕМЕНОВОДСТВА СОРТОВ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Литвиненко Н.А., Литвиненко Д.Н., Щербина З.В., Игнатовский А.А.
Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения, Украина

Цель и задачи исследований. Усовершенствование системы идентификации сортов для определения их уровня гетерогенности в процессе первичного семеноводства.

Материалы и методы. Полевые исследования, морфометрический анализ, электрофорез запасных белков, молекулярно-генетический анализ аллельного состояния микросателлитных локусов, математические и статистические методы.

Обсуждение результатов. Разработана система поэтапной идентификации сортов пшеницы мягкой озимой с использованием определенных на первом этапе – наиболее информативных и стабильных восьми морфометрических и 16 – качественно-альтернативных признаков; на втором этапе – биохимических; на третьем этапе – молекулярных маркеров аллельного состояния микросателлитных локусов. По этой системе оценок предла-

гается шкала определения уровня гетерогенности сорта в порядке возрастания от 0 до 9 баллов. Рассмотрены конкретные примеры идентификации сортов в процессе их первичного семеноводства. На протяжении 2006–2018 гг. в отделе селекции и семеноводства пшеницы СГИ – НЦСС по комплексной системе оценок уровня гетерогенности изучено 86 сортов пшеницы мягкой озимой отечественной и зарубежной селекции. Из этого количества по бальной шкале классифицируются в следующем порядке: 12 сортов (14,0 %) – полностью однородные (0–1 баллов); 22 сорта (25,6 %) – низкогетерогенные (2–3 балла); 36 сортов (41,8 %) – среднегетерогенные (4–6 баллов); 16 сортов (18,6 %) – высокогетерогенные. Значительная часть отечественных сортов (48 сортов, 55,8 %) по биохимическим и молекулярным маркерам относятся к средне- или высокогетерогенным. Одновременно эти сорта можно считать визуально однородными, поскольку по морфофизиологическим признакам они соответствуют параметрам ООС-тесту. Преобладающее большинство этих сортов отличаются повышенными адаптивными свойствами (морозостойкость, засухоустойчивость), а также показателями качества зерна сильной и ценной пшеницы. Показано, что в зависимости от методов и схем селекции проявляется определенный уровень гетерогенности у «молодых», только что созданных сортов.

Выводы. Разработанную комплексную систему поэтапной идентификации сортов пшеницы мягкой озимой и определение их гетерогенности наиболее целесообразно использовать в первичном (добазовом) семеноводстве.

Ключевые слова: пшеница мягкая озимая, сорт, идентификация, признак, биохимический молекулярный маркер, однородность, гетерогенность

UNIFORMITY AND HETEROGENEITY GENOTYPES OF WINTER WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM L.*) VARIETIES DURING BASIS SEED PRODUCTION PROCESS

Lytvynenko M.A., Lytvynenko D. M., Shcherbyna Z.V., Ignatovs'ky O.O.
Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation,
Ukraine

Purpose and objectives. Improvement of the identification system of varieties to determine their heterogeneity in the primary seed production..

Materials and methods. Field studies, morphometrical analysis, electrophoresis of storage proteins, molecular-genetic analysis of alleles of microsatellite loci, mathematic and statistical methods.

Results and discussion. A system for the phased identification of winter bread wheat varieties using certain traits has been developed: at stage 1 the most informative and stable 8 morphometric and 16 qualitatively alternative characters are used; at stage 2 biochemical traits are used; at stage 3 molecular markers of the allelic state of microsatellite loci are used. According to this rating system, a scale is proposed for determining the heterogeneity of a variety in ascending order from 0 to 9 points. Specific examples of identification of varieties in the production primary of their seeds are considered. In 2006–2018 in the Department of Wheat Breeding and Seed Production PBGI - NCSCI, 86 winter bread wheat varieties bred in Ukraine and in other countries were studied using the comprehensive system for assessing the heterogeneity. They were rated according to the scale as follows: 12 varieties (14.0%) were completely uniform (0–1 points); 22 varieties (25.6%) - low heterogeneous (2-3 points); 36 varieties (41.8%) - medium heterogeneous (4-6 points); 16 varieties (18.6%) - highly heterogeneous. A significant portion of domestic varieties (48 varieties, 55.8%) were categorized as medium- or highly heterogeneous by biochemical and molecular markers. At the same time, these varieties can be considered visually uniform, since according to morphophysiological characteristics they correspond to the DUS-test requirements. The vast majority of these varieties are characterized by

increased adaptability (frost tolerance, drought resistance) and grain quality indicators typical for strong and valuable wheats. It was shown that, depending on breeding methods and designs, a certain level of heterogeneity is intrinsic to "young", newly developed varieties.

Conclusions. The developed comprehensive system for the phased identification of winter bread wheat varieties and the determination of their heterogeneity is the most expedient to use in the primary (pre-basic) seed production.

Key words: *winter bread wheat, varieties, identification, trait, biochemical molecular marker, uniformity, heterogeneity*