

Н.О. КОЗУБ^{1,2}, І.О. СОЗІНОВ¹,
Я.Б. БЛЮМ², О.О. СОЗІНОВ^{1,2}

¹ Інститут захисту рослин НААН України, Київ
E-mail: sia1@i.com.ua

² ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТІВ ГАММА-ОПРОМІНЕННЯ ЗЕРЕН F_1 М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ З ВИКОРИСТАННЯМ ГЛІАДИНІВ ЯК ГЕНЕТИЧНИХ МАРКЕРІВ



Досліджено ефекти гамма-опромінення дозою 200 Гр сухих зерен F_1 м'якої пшениці. Матеріалом дослідження слугували гібриди від схрещування майже ізогенних ліній на основі сорту Безоста 1. Опромінення приводило до істотного зниження ознак продуктивності рослин F_1 та не впливало на виживання рослин в даних умовах вирощування. Виявлено, що одним з ефектів опромінення зерен F_1 є відносно підвищення частки чоловічих гамет з 1BL/1RS транслокацією, які взяли участь у формуванні зернівок F_2 , порівняно з контролем. Опромінення викликало мутації в гліадинових локусах з частотою 7,4 % (при 0,5 % в контролі).

© Н.О. КОЗУБ, І.О. СОЗІНОВ, Я.Б. БЛЮМ,
О.О. СОЗІНОВ, 2013

Вступ. Опромінення насіннєвого матеріалу гамма-променями представляє інтерес як джерело нової генетичної мінливості для селекції, як спосіб отримання матеріалу для генетичних досліджень, а також для вивчення процесів, що відбуваються в рослинах у відповідь на вплив цього фактора [1–5]. Опромінення є найбільш поширеним методом індукції мутацій при створенні сортів сільськогосподарських рослин шляхом мутагенезу (89 % прямих мутантних сортів), причому 64 % випадків припадає на використання гамма-опромінення, а 22 % – рентгенівського опромінення [6]. У світовій практиці для отримання мутантних сортів пшениці застосовувалось гамма-опромінення в широкому діапазоні доз (від 15 до 350 Гр), проте основну частку районованих мутантних сортів отримано з використанням гамма-опромінення у дозах 200–300 Гр [1]. Доза 200 Гр є оптимальною для обробки сухого насіння озимої м'якої пшениці за максимальною загальною частотою видимих мутацій у поколіннях M_1 – M_3 [1]. Частота індукованих мутацій за окремими морфологічними та фізіологічними ознаками у пшениці при гамма-опроміненні зерна досягає 0,90 %, загальна частота видимих мутацій при опроміненні 200 Гр – 2,43–5,94 % [1]. У деяких сортів озимої пшениці загальна частка родин M_2 зі зміненими ознаками при опроміненні 200 Гр може досягати 25 % [3].

Первинні зміни ДНК при дії іонізуючого опромінення зумовлені переважно взаємодією радикалів, що виникають при радіолізі води в клітинах [2, 8], яка приводить до одноланцюгових та дволанцюгових розривів. Розриви ланцюга також можуть виникати в результаті прямої взаємодії іонізуючої радіації з ДНК. Найбільш небезпечними для клітини є дволанцюгові розриви. Їхня репарація може відбуватися шляхом гомологічної рекомбінації та негомологічного з'єднання кінців (незаконна рекомбінація), коли один розірваний кінець ДНК неспецифічно з'єднується з іншим [9]. Тому іонізуюче випромінювання використовують для отримання хромосомних розривів, інверсій, транслокацій, дуплікацій в рослинному матеріалі [8]. Основним видом мутацій, що виникають при гамма-опроміненні, є делеції фрагментів ДНК різного розміру [10], однак не виключається поява

точкових мутацій в результаті окислювально-пошкодження основ [8].

У більшості випадків при дослідженні наслідків опромінення зерна пшениці аналізували його вплив на частоту хромосомних аберацій, рівень проростання і виживання, зміну морфологічних та фізіологічних ознак, частоту видимих мутацій, при цьому матеріалом слугували сорти [1, 7, 11–15]. Дослідження впливу радіації на розщеплення за маркерними локусами у гібридів пшениці практично не проводилось. Зручною моделлю для таких досліджень може бути матеріал з пшенично-житньою 1BL/1RS транслокацією. Відомо, що житня 1BL/1RS транслокація, яка є найбільш поширеною інтрогресією у комерційних сортів пшениці [16], характеризується зниженою частотою передачі через чоловічі гамети [17]. Вплив абіотичних факторів на частоту передачі цієї транслокації не досліджували. Гамма-опромінення може бути використане як абіотичний фактор, що призводить до пригнічення показників фізіологічного стану рослин.

Маркером 1BL/1RS транслокації є гліадиновий алель *Gli-B11* (Gld1B3) [18, 19]. Відомо, що локуси запасних білків пшениці характеризуються високим рівнем виникнення спонтанних мутацій. За даними Чернакова та ін. [20], частота зустрічання мутантних спектрів за гліадиновими локусами становить 0,68 % на генотип, частота виникнення мутацій – не менше 0,03 % на локус в одному поколінні. При цьому основним типом мутацій є втрата компонентів, кодованих генами цих локусів. Подібні мутації за гліадиновими локусами (виникнення нуль-алелів) у твердої і м'якої пшениці виявлено іншими дослідниками [21]. Можуть зустрічатись також мутації, пов'язані з втратою синтезу окремих компонентів, зміною інтенсивності синтезу окремих білків [20]. Висока частота мутацій у локусах запасних білків, ймовірно, визначається їхніми особливостями – кластерною організацією та будовою самих запасних білків, які мають повторюваний домен – тандемні повтори коротких поліпептидних мотивів [22].

Мета нашого дослідження – вивчити вплив гамма-опромінення сухих зерен F_1 , гетерозиготних за присутністю житньої 1BL/1RS транслокації, на виживання рос-

лин F_1 , ознаки продуктивності, частоту передачі цієї транслокації через гамети та ідентифікацію індукованих гамма-опроміненням мутацій за гліадиновими локусами.

Матеріали і методи. Для дослідів використовували зерна F_1 від схрещування майже ізогенних ліній (МІЛ) озимої м'якої пшениці за гліадиновими локусами GLI-D1-4 × GLI-B1-3 на основі сорту Безоста 1 [23]. Вихідні лінії відрізнялись лише за присутністю пшенично-житньої транслокації 1BL/1RS (її маркером є гліадиновий алель *Gli-B11* [18, 19]) та за гліадиновим локусом *Gli-D1* і мали наступні генотипи за гліадиновими локусами (позначення алелів за каталогом [19]): лінія GLI-B1-3 – *Gli-A1b Gli-B11 Gli-D1b Gli-A2b Gli-B2b Gli-D2b*; лінія GLI-D1-4 – *Gli-A1b Gli-B1b Gli-D1j Gli-A2b Gli-B2b Gli-D2b*. У дослідному варіанті сухі зерна F_1 обробляли гамма-променями в дозі 200 Гр. Контрольні та опромінені зерна F_1 висівали на дослідній ділянці блоками з чергуванням рядів «контроль», «варіант з опроміненням зерен» широкорядним посівом. У 2005 р. висадили 95 контрольних і 97 опромінених зерен (Київ, дослідна ділянка Інституту агроєкології НААН України) та виростили 73 і 81 рослини відповідно. У 2006 р. висіяли по 200 зерен кожного варіанту (с. Гатне, Київська обл.) та виростили 135 F_1 рослин контрольного і 123 рослини варіанта з опроміненням. Кожну рослину F_1 охарактеризували за ознаками «кількість продуктивних стебел» та «маса зерна з рослини». Виживання рослин визначали як відношення кількості рослин F_1 до кількості висіяних зерен F_1 . Достовірність різниці оцінювали за критерієм Ст'юдента.

З кожної рослини F_1 проаналізували 15–25 окремих зернівок F_2 електрофорезом гліадинів за методикою [24]. Проаналізовано 1762 окремих зерна F_2 контрольного варіанта та 1730 варіантів з дозою опромінення 200 Гр з рослин, зібраних у 2006 р.; з рослин, вирощених у 2007 р., проаналізовано 2399 та 2386 зерен відповідно. Генотипи зернівок записували з врахуванням дози гена, яка дозволяє визначити генотип гамет, що сформували зернівку за локусами запасних білків: дві дози (перші дві букви) – генотип яйцеклітини, одна доза (третья буква) – пилкового зерна

[25]. Для аналізу розщеплень використовували критерій χ^2 .

Результати досліджень. Вплив гамма-опромінення сухих зерен на виживання та ознаки продуктивності рослин F_1 . За показником виживання рослин F_1 озимої м'якої пшениці варіант з опроміненням сухих зерен у дозі 200 Гр та контрольний варіант достовірно не відрізнялись в обидва роки досліджень (табл. 1). Однак рівень виживання у варіанті з опроміненням в умовах 2006–2007 рр. був достовірно ($P < 0,001$) нижчий, ніж у 2005–2006 рр., тоді як рівень виживання у контрольному варіанті в ці роки істотно не відрізнявся. Отже, опромінення сухих зерен F_1 від схрещування лінії на основі сорту Безоста 1 у дозі 200 Гр не приводило до істотного зниження виживання рослин порівняно з контролем.

При відсутності впливу на рівень виживання рослин опромінення зерен F_1 у дозі 200 Гр приводило до суттєвого зниження по-

казників продуктивності рослин. В обидва роки досліджень рослини F_1 , вирощені з опромінених зерен, мали істотно менше значення числа продуктивних стебел та маси зерна з рослини, ніж у контрольному варіанті (табл. 1). Слід зазначити, що популяції двох років значно відрізнялись за продуктивним кушенням ($P < 0,01$) як у варіанті з опроміненням, так і в контролі, проте не відрізнялись за масою зерен з рослини. У 2006 р. значення ознак продуктивності у варіанті з дозою опромінення 200 Гр становило 82 % від значення в контролі для числа продуктивних стебел та 75 % для маси зерна з рослини, в 2007 р. ці показники становили 72 і 64 % відповідно.

Вплив гамма-опромінення сухих зерен на частоту передачі *IBL/IRS* транслокації через гамети. Розщеплення за локусом *Gli-B1* у зерен F_2 значно відрізнялось від співвідношення 1:1:1:1 ($P < 0,01$) (табл. 2) та відповідало цьому співвідношенню за локусом *Gli-D1*. У рос-

Таблиця 1

Середні значення (\pm стандартна похибка) ознак продуктивності та виживання рослин F_1 , вирощених з опромінених (200 Гр) та контрольних зерен

Варіант	Число продуктивних стебел з рослини	Маса зерна з рослини	Вживання рослини
2006 р.			
Контроль	8,36 \pm 0,44	12,69 \pm 0,93	0,768 \pm 0,043
200 Гр	6,83 \pm 0,40 *	9,50 \pm 0,65 *	0,835 \pm 0,038
2007 р.			
Контроль	6,80 \pm 0,40	12,46 \pm 0,88	0,675 \pm 0,040
200 Гр	4,89 \pm 0,32 **	8,03 \pm 0,61 **	0,615 \pm 0,044

Примітка. Достовірно відрізняється від контролю: * при $P < 0,01$, ** при $P < 0,001$.

Таблиця 2

Розщеплення за аелями локусу *Gli-B1* у зерен F_2 з рослин F_1 , вирощених з опромінених (200 Гр) та контрольних зерен

Рік	Варіант	<i>b.b.b</i>	<i>b.b.l</i>	<i>l.l.b</i>	<i>l.l.l</i>	χ^2
2006	Контроль	564	365	499	340	77,98 *
	200 Гр	582	393	424	332	78,76 *
2007	Контроль	725	559	654	461	65,93 *
	200 Гр	679	588	608	511	24,01 *
Сумарно за два роки	Контроль	1289	924	1153	801	139,51 *
	200 Гр	1261	981	1032	843	88,15 *

* $P < 0,01$.

лин, вирощених в 2006 р., за локусом *Gli-B1* розщеплення за генотипами пилоквих зерен, що сформували зерна F₂ (табл. 2), істотно не відрізнялись між контрольним та дослідним варіантами, тоді як за жіночими гаметами у варіанті з опроміненням у дозі 200 Гр співвідношення гамет з алелями *Gli-B1b* та *Gli-B1l* достовірно відрізнялось від розщеплення у контролі ($\chi^2 = 5,0$, P = 0,025). У варіанті з опроміненням відносна кількість жіночих гамет з хромосоною, що несе житню транслокацію 1BL/1RS (алель *Gli-B1l*), була меншою. У рослин урожаю 2007 р. за локусом *Gli-B1* розщеплення за генотипами пилоквих зерен з алелями *Gli-B1b* та *Gli-B1l*, що сформували зерна F₂, істотно відрізнялись між контрольним варіантом та варіантом з опроміненням ($\chi^2 = 6,1$, P < 0,025), тоді як

за жіночими гаметами співвідношення не відрізнялось. В обох варіантах спостерігалась знижена частота пилоквих зерен з алелем *Gli-B1l*, проте у варіанті з опроміненням відносна чисельність таких гамет збільшувалась.

Результати порівняння співвідношень різних типів гамет за два роки показали, що в популяції 2006 р. спостерігалась більша інтенсивність відбору проти гамет з житньою транслокацією на рослинах, вирощених з опромінених зерен ($\chi^2 = 7,09$, P < 0,01 для пилоквих зерен та $\chi^2 = 4,20$, P < 0,05 для яйцеклітин), ніж в умовах 2007 р., тоді як контрольні варіанти в ці роки між собою істотно не відрізнялись за вказаними співвідношеннями (табл. 3).

Аналіз розщеплення в F₂ сумарно для двох років показав, що співвідношення пилоквих

Таблиця 3

Розщеплення у гамет, що сформували зерна F₂, за алелями локусу *Gli-B1*

Рік	Варіант	Яйцеклітини			Пилкові зерна		
		<i>b</i>	<i>l</i>	χ^2 1:1	<i>b</i>	<i>l</i>	χ^2 1:1
2006	Контроль	929	839	4,58*	1063	705	72,49 **
	200 Гр	975	756	27,71**	1006	725	45,62 **
2007	Контроль	1284	1115	11,91**	1379	1020	53,72 **
	200 Гр	1267	1119	9,18**	1287	1099	14,81 **
Сумарно за два роки	Контроль	2213	1954	16,10**	2442	1725	123,37 **
	200 Гр	2242	1875	32,72**	2293	1824	53,43 **

* P < 0,05; ** P < 0,01.

Таблиця 4

Кількість рослин варіанта з опроміненням, у потомстві яких (серед зерен F₂) виявлено мутації за певним гліадиновим локусом, та загальна частота мутацій за гліадиновими локусами

Рік	Локус				Частота мутацій, %
	<i>Gli-B1</i>	<i>Gli-D1</i>	<i>Gli-B2</i>	<i>Gli-D2</i>	
2006	4 (1 – нуль-алель, 2 – відсутність γ -гліадину, кодованого алелем <i>b</i> , 1 – зміна рухливості нижнього ω -компонента, кодованого алелем <i>l</i>)	3 (нуль-алель)	2 (нуль-алель)	1 (нуль-алель)	12,3 ± 3,7
2007	3 (1 – нуль-алель, 1 – знижена інтенсивність γ -гліадину, кодованого алелем <i>Gli-B1b</i> , 1? – поява компонента в γ -зоні)	1 (нуль-алель)	1 (відсутність 2 нижніх β -гліадинів, кодованих алелем <i>b</i>)	–	4,1 ± 1,8
Разом	7	4	3	1	7,4 ± 1,8

зерен з різними генотипами за маркерним локусом *Gli-B1* при опроміненні 200 Гр істотно відрізняється від співвідношення у контрольному варіанті ($\chi^2 = 7,1$, $P < 0,01$) за рахунок відносного збільшення частки гамет з 1BL/1RS транслокацією порівняно із контролем ($0,443 \pm 0,008$ у варіанті з опроміненням і $0,414 \pm 0,008$ у контролі). Відхилення частоти маркерного алеля *Gli-B1l* від 0,5 при опроміненні 200 Гр (0,057) зменшується на третину порівняно з цим відхиленням у контролі (0,086).

Ідентифікація індукованих гамма-опроміненням мутацій за гліадиновими локусами. Частоту мутацій індукованих гамма-опроміненням сухих зерен серед рослин F_1 (M_1) пшениці визначали на основі електрофоретичного аналізу потомства зерен F_2 (M_2). Індуковані гамма-опроміненням мутації, що приводили до зміни в електрофоретичних спектрах гліадинів, виявлені серед нащадків 10 рослин F_1 2006 р. та 5 рослин популяції, вирощеної в 2007 р. (табл. 4). Загальна частота таких мутацій становила 7,14 %. У контрольному варіанті виявлено одну рослину, в потомстві якої спостерігався алель *Gli-B2b* з відсутністю експресії двох нижніх β -гліадинів. Для сумарної популяції рослин контрольного варіанта частота спонтанних мутацій за гліадиновими локусами становила 0,5 %.

Більшість випадків (дев'ять) зміни в гліадинових спектрах проявлялись у відсутності всіх компонентів, кодованих алелем за певним гліадиновим локусом (нуль-алель). Нуль-алелі виявлено за локусами *Gli-D1*, *Gli-B2*, *Gli-D2* та *Gli-B1* (табл. 4, рис. 1 і 2).

За локусом *Gli-B1* у потомстві двох рослин спостерігались зернівки, у яких були присутні ω -гліадини, кодовані алелем *Gli-B1b*, та відсутній γ -компонент (рис. 3). В одній рослині F_1 серед потомства ідентифіковано генотипи зі зміненою рухливістю нижнього ω -компонента блоку секалінів *Gli-B1l* (рис. 4). Серед потомства однієї рослини зустрічались зернівки зі зниженою інтенсивністю γ -гліадину, кодованого алелем *Gli-B1b* (рис. 5).

За локусом *Gli-B2* у потомстві однієї рослини варіанта з опроміненням спостерігались зернівки, у яких були присутні верхні β -гліадини, кодовані алелем *Gli-B2b*, та відсутні

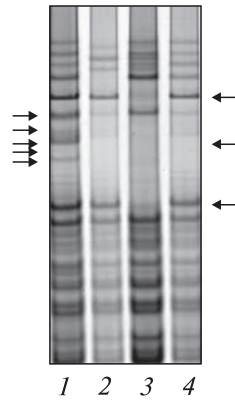


Рис. 1. Електрофореграма гліадинів окремих зернівок (1–4) рослини F_1 від схрещення майже ізогенних ліній на основі сорту Безоста 1 у варіанті з опроміненням зерен дозою 200 Гр: 3 – зернівка, гомозиготна за нуль-алелем локусу *Gli-B1*. Стрілками позначено компоненти, кодовані алелями локусу *Gli-B1* (l – зліва; b – справа)

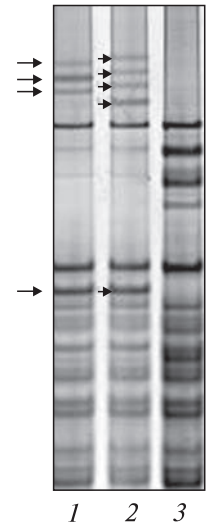


Рис. 2. Електрофореграма гліадинів окремих зернівок рослини F_1 варіанта з опроміненням: 3 – зернівка, гомозиготна за нуль-алелем локусу *Gli-D1*. Стрілками позначено компоненти, що кодуються алелями *Gli-D1b* (1) та *Gli-D1j* (2)

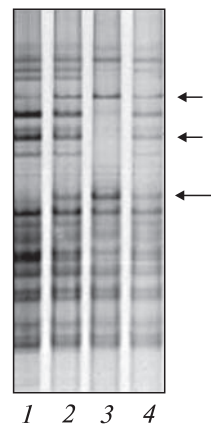


Рис. 3. Електрофореграма гліадинів окремих зернівок F_2 (1–4) рослини F_1 варіанта з опроміненням: 1 – зернівка, гетерозиготна за мутантним алелем *Gli-B1b* з відсутністю γ -компонента. Стрілками позначено компоненти, кодовані алелем *Gli-B1b*, довгою стрілкою – γ -компонент, кодований алелем *Gli-B1b*

два нижніх β -компоненти (рис. 6). Крім цього, у однієї рослини ідентифіковано зернівки з алелем *Gli-B1l* і появою додаткового γ -компонента. Щоб визначити, геном якого

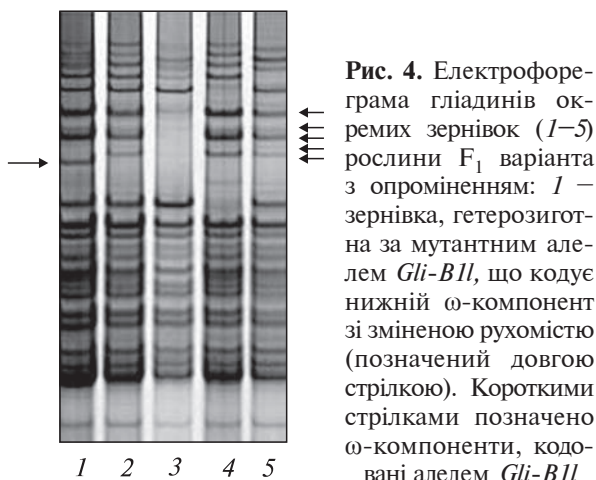


Рис. 4. Електрофореграма гліадинів окремих зернівок (1–5) рослини F_1 варіанта з опроміненням: 1 – зернівка, гетерозиготна за мутантним алелем *Gli-B1l*, що кодує нижній ω -компонент зі зміненою рухомістю (позначений довгою стрілкою). Короткими стрілками позначено ω -компоненти, кодовані алелем *Gli-B1l*

Рис. 5. Електрофореграма гліадинів окремих зернівок (1–5) рослини F_1 варіанта з опроміненням: 2, 5 – зернівки з мутантним алелем *Gli-B1b* зі зниженою експресією γ -компонента (позначено довгою стрілкою). Стрілками позначено компоненти, кодовані алелем *Gli-B1b*

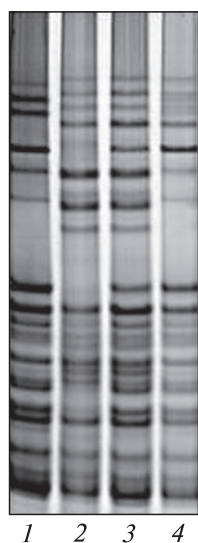
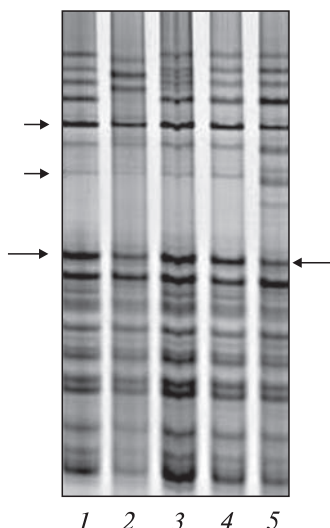


Рис. 6. Електрофореграма гліадинів окремих зернівок (1–4) рослини F_1 варіанта з опроміненням: 2 – зернівка, гетерозиготна за мутантним алелем *Gli-B2b* з відсутністю експресії двох нижніх гліадинів (позначені довгими стрілками). Стрілками позначено компоненти, кодовані алелем *Gli-B2b*

локусу кодується новий компонент, потрібно провести гібридологічний аналіз за умови виділення лінії, що експресує цей компонент.

Обговорення одержаних даних. Життя 1BL/1RS транслокація на даний час є найпоширенішою чужинною транслокацією серед комерційних сортів м'якої пшениці [16]. Так, серед українських сортів зони Лісостепу частка сортів з цією інтрогресією, створених в останні 15 років, становить понад 40 % [24]. Відомо, що ця транслокація характеризується зниженою частотою передачі через чоловічі гамети (приблизно 40 %) у гетерозигот за цією транслокацією [24]. У наших попередніх дослідженнях з використанням запасних білків як генетичних маркерів також виявлено зниження частоти передачі 1BL/1RS транслокації і через жіночі гамети, хоча це зниження менш виражене [26]. Ймовірно, частота передачі житньої транслокації через гамети у гетерозигот може залежати від генотипу рослини, а також від абіотичних факторів – умов навколишнього середовища. Обробка зерен опромінюванням, яка приводить до зниження показників продуктивності, дозволяє змодельовати несприятливі умови.

Опромінення сухих зерен F_1 від схрещування ліній на основі сорту Безоста 1 у дозі 200 Гр не приводило до істотного зниження виживання рослин порівняно з контролем. При цьому умови 2005–2006 рр. були більш сприятливими для виживання рослин у варіанті з опроміненням. Очевидно, рівень виживання рослин M_1 (вирощених з опроміненних зерен) пшениці залежить від ґрунтово-кліматичних, погодних умов і природи досліджуваного матеріалу. Так, опромінення зерна в дозі 200 Гр приводило до виживання 86 % рослин від рівня контролю у трьох пакистанських сортів м'якої пшениці [27]. Значно нижчі рівні виживання рослин M_1 , вирощених з опроміненних у дозі 200 Гр сухих зерен, отримано для ряду українських озимих сортів (8–56 % від значення в контролі) [1, 7, 12].

Опромінення зерен F_1 в дозі 200 Гр при відсутності впливу на рівень виживання рослин приводило до істотного зниження показників продуктивності – маси зерна з рослини та числа продуктивних стебел. Маса

зерна з рослини становила 64 і 75 % від контролю в різні роки посіву, а число продуктивних стебел – 72 і 82 %. Подібне зниження рівня певних ознак продуктивності при опроміненні цією дозою зафіксовано і для ряду сортів [7, 12].

На рослинах, вирощених з опромінених зерен F_1 , які характеризувались істотно зниженим рівнем ознак продуктивності, нами вперше виявлено специфічний генетичний ефект: відмінності у відносній частоті пилкових зерен з житньою 1BL/1RS транслокацією, які взяли участь у формуванні зернівок F_2 , порівняно з контролем. Як і очікувалось, частка пилкових зерен з житньою 1BL/1RS транслокацією була зниженою порівняно з часткою пилкових зерен без транслокації (маркер – алель *Gli-B1b*) як у варіанті з опроміненням, так і в контролі. Однак опромінення сухих зерен F_1 , гетерозиготних за присутністю житньої 1BL/1RS транслокації, у дозі 200 Гр приводило до істотного відносного підвищення частоти пилкових зерен з цією транслокацією, які взяли участь у формуванні зернівок F_2 . Відхилення частоти маркерного алеля *Gli-B1b* від 0,5 при опроміненні у дозі 200 Гр зменшується на третину цього відхилення в контролі. Можна припустити дві причини такого явища: 1) опромінення спричинює відносне зниження частоти утворення пилкових зерен без транслокації; 2) опромінення приводить до підвищення рівня виживання або конкурентоздатності пилкових зерен з даною транслокацією.

Частота видимих мутацій за гліадиновими локусами при гамма-опроміненні сухих зерен пшениці у дозі 200 Гр зростає на порядок – 7,4 % порівняно з 0,5 % в контролі (частота спонтанних мутацій за гліадиновими локусами узгоджується з даними [20]). Найбільш частою індукованою мутацією є відсутність цілого блоку гліадинових компонентів, що найбільш ймовірно викликано делецією відповідного локусу. Виявлено також мутації, пов'язані з відсутністю певних гліадинових компонентів, зі зниженням інтенсивності синтезу γ -гліадину, зміною рухомості компонента. Оскільки поділ проламінів при електрофорезі в кислому середовищі відбувається як за масою, так і за зарядом молекули, то мутація, що

викликала зміну рухомості нижнього ω -компонента блоку секалінів, кодованого алелем *Gli-B1b*, могла відбутись і за рахунок делеції, і за рахунок нуклеотидної заміни, що привела до зміни заряду білкової молекули.

Відомо, що алельні стани гліадинових локусів пов'язані з проявом ознак хлібопекарської якості [22]. Локуси *Gli-1* тісно зчеплені з локусами низькомолекулярних субодиниць глютенінів, які безпосередньо визначають хлібопекарську якість [22]. Отримання матеріалу з мутаціями за локусами запасних білків дозволить вивчати роль окремих білкових компонентів у визначенні якості та створювати лінії пшениці з новими властивостями.

Висновки. Опромінення сухих зерен F_1 м'якої пшениці гамма-променями у дозі 200 Гр приводило до істотного зниження ознак продуктивності рослин F_1 та не впливало на виживання рослин в даних умовах вирощування. Виявлено, що одним з ефектів опромінення зерен F_1 є відносне підвищення частки чоловічих гамет з 1BL/1RS транслокацією, які взяли участь у формуванні зернівок F_2 , порівняно з контролем. Опромінення дозою 200 Гр на порядок підвищувало частоту видимих мутацій в гліадинових локусах.

N.O. Kozub, I.A. Sozinov, Ya.B. Blume, A.A. Sozinov

STUDY OF THE EFFECTS OF GAMMA-IRRADIATION OF COMMON WHEAT F_1 SEEDS USING GLIADINS AS GENETIC MARKERS

Effects of irradiation of dry F_1 seeds with gamma rays in the dose of 200 Gy were studied. Hybrids between near-isogenic lines on the basis of the variety Bezostaya 1 served as the material of investigation. Irradiation markedly reduced productivity traits of F_1 plants and did not affect the survival of F_1 plants under the given growth conditions. A significant relative increase in the frequency of pollen grains with the 1BL/1RS translocation that formed F_2 seeds in comparison with the control was one of the effects of irradiation of F_1 seeds. Irradiation with gamma-rays induced mutations at gliadin loci with the frequency of 7,4 % (at 0,5 % in the control).

H.A. Kozub, I.A. Sozinov, Ya.B. Blum, A.A. Sozinov

ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ ЗЕРЕН F_1 МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЛИАДИНОВ В КАЧЕСТВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Исследованы эффекты гамма-облучения дозой 200 Гр сухих зерен F_1 мягкой пшеницы. Материа-

лом исследования служили гибриды от скрещивания почти изогенных линий на основе сорта Безостая 1. Облучение приводило к существенному снижению признаков продуктивности растений F₁ и не влияло на выживаемость растений в данных условиях выращивания. Обнаружено, что одним из эффектов облучения зерен F₁ является относительное повышение доли мужских гамет с 1BL/1RS транслокацией, принявших участие в формировании зерновок F₂, по сравнению с контролем. Облучение индуцировало мутации в глиадиновых локусах с частотой 7,4 % (при 0,5 % в контроле).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Моргул В.В., Логвиненко В.Ф. Мутационная селекция пшеницы. — Киев : Наук. думка, 1995. — 626 с.
2. Гродзинский Д.М. Радиобиология растений. — Киев : Наук. думка, 1989. — 384 с.
3. Mago R., Spielmeyer W., Lawrence G.J., Ellis J.G., Pryor A.J. Resistance genes for stem rust (*SrR*) and barley powdery mildew (*Mla*) are located in syntenic regions on short arm of chromosome // Genome. — 2004. — **47**. — P. 112–121.
4. Spielmeyer W., Singh R.P., McFadden H., Wellings C.R., Huerta-Espino J., Kong X., Appels R., Lagudah E.S. Fine scale genetic and physical mapping using interstitial deletion mutants of *Lr34/Yr18*: a disease resistance locus effective against multiple pathogens in wheat // Theor. Appl. Genet. — 2008. — **116**. — P. 481–490.
5. Kalavacharla V., Hossain K., Gu Y., Riera-Lizarazu O. et al. High-resolution radiation map of wheat chromosome D // Genetics. — 2006. — **173**. — P. 1080–1099.
6. Ahloowalia B.S., Maluszynski M., Nichterlein K. Global impact of mutation-derived varieties // Euphytica. — 2004. — **135**. — P. 187–204.
7. Оксьом В.П. Вплив мутагенних чинників на рослини M₁ озимої пшениці та його зв'язок із частотою змінених форм у другому поколінні // Физиология и биохимия культур. растений. — 2010. — **42**, № 5. — С. 153–162.
8. Britt A.B. DNA damage and repair in plants // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. — 1996. — **47**. — P. 75–100.
9. Puchta H. The repair of double-strand breaks in plants: molecular mechanisms and consequences for genome evolution // J. Exp. Bot. — 2005. — **56**, № 409. — P. 1–14.
10. Naito K., Kusaba M., Shikazono N., Takano T., Tanaka A., Tanisaka T., Nishimura M. Transmissible and nontransmissible mutations induced by irradiation *Arabidopsis thaliana* pollen with γ -rays and carbon ions // Genetics. — 2005. — **169**. — P. 881–889.
11. Клименко Я.В., Ларченко К.А. Частота хромосомних абераций озимої пшениці, індукованих мутагенами при дії на насіння та проростки // Физиология и биохимия культур. растений. — 2006. — **38**, № 3. — С. 222–227.
12. Назаренко М.М. Вживаність і структура врожайності як показники мутагенної депресії у першому поколінні мутантів сортів озимої м'якої пшениці // Физиология и биохимия культур. растений. — 2007. — **39**, № 5. — С. 438–446.
13. Singh N.K., Balyan H.S. Induced mutations in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) CV. 'Kharchia 65' for reduced plant height and improve grain quality traits // Adv. Biol. Res. — 2009. — **3**, № 5/6. — P. 215–221.
14. Borzouei A., Kafi M., Khazaei H., Naseriyan B., Majdabadi A. Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings // Pak. J. Bot. — 2010. — **42**, № 4. — P. 2281–2290.
15. Kim J.Y., Kim D.Y., Jang C.S., Seo Y.W. Development of molecular markers for bentazone resistant wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by gamma-ray irradiation // J. Korean Phys. Soc. — 2007. — **50**, № 5. — P. 1499–1505.
16. Rabinovich S.V. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. // Euphytica. — 1998. — **100**. — P. 323–340.
17. Rayburn L.A., Mornhinweg D.W. Inheritance of a 1BL/1RS wheat-rye translocated chromosome in wheat // Crop Sci. — 1988. — **28**. — P. 709–711.
18. Созінов А.А., Попереля Ф.А. Электрофорез глиадина как метод идентификации пшениц, у которых 1В-хромосома полностью или частично замещена 1R-хромосомой ржи // Докл. ВАСХНИЛ. — 1977. — № 2. — С. 2–4.
19. Metakovsky E.V. Gliadin allele identification in common wheat. 2. Catalogue of gliadin alleles in common wheat // J. Genet. Breed. — 1991. — **45**. — P. 325–344.
20. Чернаков В.М., Метаковский Е.В. Спонтанные мутации по глиадинкодирующим локусам, найденные при анализе колосового и линейного материала яровой мягкой пшеницы // Генетика. — 1993. — **29**, № 1. — С. 114–124.
21. Lafiandra D., Colaprico G., Kasarda D.D., Porceddu E. Null alleles for gliadin blocks in bread and durum wheat cultivars // Theor. Appl. Genet. — 1987. — **74**. — P. 610–616.
22. Созінов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. — М.: Наука, 1985. — 272 с.

23. Копусь М.М. О естественной геногеографии глиадиновых аллелей у озимой мягкой пшеницы // Селекция и семеноводство. – 1994. – № 5. – С. 9–14.
24. Козуб Н.А., Созинов И.А., Собко Т.А., Кольчухин В.Т., Купцов С.В., Созинов А.А. Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine // Цитология и генетика. – 2009. – 43, № 1. – С. 69–77.
25. Созинов А.А., Попереля Ф.А., Стаканова А.И. Гибридологический анализ как метод изучения генетических закономерностей биосинтеза глиадина // Науч.-техн. бюл. ВСГИ. – 1975. – Вып. 24. – С. 10–14.
26. Козуб Н.А., Созинов И.А., Созинов А.А. Особенности передачи ржаных транслокаций 1AL/1RS и 1BL/1RS через гаметы у гибридов мягкой пшеницы // Фактори експериментальної еволюції організмів : Зб. наук. пр./ Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавілова. – К.: Логос, 2008. – Т. 4. – С. 163–168.
27. Irfaq M., Nawab K. Effect of gamma irradiation on some morphological characteristics of three wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars // OnLine J. Biol. Sci. – 2001. – 1 (10). – P. 935–937.

Надійшла 31.01.12