

## ГЕНЕТИКА, СЕЛЕКЦІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 62-182.7: 575

### ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ДЛИНЕ ЗАМЫКАЮЩИХ КЛЕТОК УСТЬИЦ

© 2011 г. Н. П. Ламари, В. И. Файт

Селекционно-генетический институт –  
Национальный центр семеноведения и сортоизучения  
Национальной академии аграрных наук Украины  
(Одесса, Украина)

Исследовано генетическое разнообразие озимой мягкой пшеницы по длине замыкающих клеток устьиц листа в полевых условиях и в камере искусственного климата при температуре выращивания +2°C и 16-часовой продолжительности дня. Проанализировано восемь озимых сортов пшеницы разного происхождения, 14 рекомбинантно-инбредных линий комбинации скрещивания Одесская 16 / Безостая 1. Отмечена существенная однородность использованного материала по длине замыкающих клеток устьиц (ЗКУ) листа ( $CV < 19$ ). Показано практически полное отсутствие взаимосвязи оценок второго и третьего листа по длине замыкающих клеток при температуре выращивания +2°C ( $r = 0,09 \pm 0,223$ ) и наличие таковой в полевых условиях ( $r = 0,56 \pm 0,184$ ). Низкий коэффициент детерминации ( $R^2 = 0,36$ ) длины ЗКУ с продолжительностью периода до колошения и высотой растений у большей части образцов свидетельствовал об отсутствии тесной взаимосвязи их варьирований. Оценка длины замыкающих клеток устьиц третьего листа в полевых условиях наиболее приемлема для выявления генетического разнообразия по указанному признаку ( $p^{\text{in}}_G = 50,4\%$ ).

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum L.*, устьица, замыкающие клетки, генетическое разнообразие

Отсутствие достаточного уровня адаптивности сорта к условиям выращивания приводит к дополнительным потерям урожая зерна (Орлюк, Гончарова, 2003). Одним из способов повышения адаптивного потенциала создаваемых сортов может быть поиск маркерных признаков для использования в селекции. В качестве таковых могут выступать и различные морфологические признаки, в частности размеры замыкающих клеток устьиц листа. Отмечается взаимосвязь длины замыкающих клеток устьиц некоторых листьев с устойчивостью озимой пшеницы к низким отрицательным температурам (Limin, Fowler, 1989; 2000) и потенциальной продуктивностью генотипов яровой пше-

ницы (Тупицын, Захаров, 1996). Предложено также использовать размер устьичного аппарата и замыкающих клеток как маркерный признак устойчивости к мучнистой росе (Чернецкая, Валетов, 2007), засухе (Давыдов, 2007), а также для контроля случайных генетических загрязнений в процессе искусственной полиплоидизации (Леви и др., 2004).

Достоверного влияния метамера листа на размер замыкающих клеток в искусственных условиях роста не отмечалось, о чем свидетельствовала высокая корреляция между третьим и четвертым листом ( $r = 0,88$  при  $P < 0,001$ ). Некоторые авторы (Hoogendoorn et al., 1990) высказали мнение, что уменьшение размеров органов и клеток у короткостебельных и полукарликовых сортов может быть следствием редукции растяжения клеток, обусловленной присутствием в их генотипах гиббереллин-нечувствительных генов короткостебельности. Вместе с тем,

Адрес для корреспонденции: Ламари Наталья Петровна, Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения НААНУ, Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина; e-mail: natalamari@rambler.ru

Tonkinson C. L. et al. (1997) показали отсутствие различий по длине эпидермальных клеток у линий альтернативных по высоте растений при температуре выращивания 10°C. Кроме того, отмечено влияние продолжительности периода до колошения на высоту растений пшеницы (Файт, 2007). У кукурузы более позднеспелые гибриды, как правило, характеризуются наличием более длинных замыкающих клеток устьиц (Калмыков, 1960).

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы явилось изучение генетического разнообразия длины ЗКУ листьев разных метамеров озимой мягкой пшеницы в различных условиях выращивания и их взаимосвязи с продолжительностью периода до колошения и высотой растений.

## МЕТОДИКА

Исследование проводили в период с октября 2008 года по июль 2009 года. В качестве исходного материала использовали различающиеся по уровню зимо- и морозостойкости (Мокану, Файт, 2008) генотипы озимой пшеницы: 14 рекомбинантных инбредных линий (РИЛ) комбинации скрещивания Одесская 16 / Безостая 1, их родительские формы и шесть короткостебельных сортов (Альбатрос одесский, Лузановка одесская, Обрий, Одесская красноколосая, Порада, Прима одесская).

Семена изучаемых генотипов делили на две части. Первую часть семян высаживали в наполненные землей бумажные стаканчики объемом 100 см<sup>3</sup> и выращивали в камере КНТ-1 при температуре +2°C и удлиненном дне (16 часов). Вторую часть семян высевали осенью в поле. Повторность опыта в обоих случаях – пятикратная. Размещение вариантов – рендомизированное.

Для цитологического исследования готовили препараты эпидермиса, который снимали со средней части абаксиальной стороны полностью сформировавшейся пластинки 2-го и 3-го листа. Измерение длин замыкающих клеток устьиц (ЗКУ) листовой пластинки проводили с использованием микроскопа Биолам Л-211 и окулярного винтового микрометра МОБ-1-15 при увеличении 15×20 согласно общепринятой методике (Абрамова, Орлова, 1982). Всего проанализировано 2200 полей зрения.

В полевых условиях во время вегетации отмечали колошение каждого растения путем навешивания пергаментной этикетки с указанием даты появления главного колоса над ли-

гулой флагового листа. Высоту растений (ВР) измеряли от прикорневой шейки до верхушки главного колоса.

При расчетах использовали общеизвестные методы статистической обработки данных (Рокицкий, 1973; Лакин, 1990). Расчеты проведены с использованием прикладной компьютерной программы «Excel».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средние значения длины ЗКУ изученных генотипов существенно различались в трех вариантах опыта (у вторых и третьих листьев растений, выращенных в камере, и у третьих листьев растений, выращенных в поле) (таблица). Исключение составил вариант опыта «поле – второй лист». В этом варианте влияние генотипа на длину ЗКУ не существенно ( $F_{\text{расчетное}}=1,26 < F_{\text{табличное}}=1,68$ ), что является, видимо, следствием достаточно низкого фенотипического разнообразия по сравнению с тремя другими вариантами опыта. Разница средних крайних значений длины ЗКУ (min-max) составила в данном варианте опыта всего 6,5 мкм. В то же время в вариантах «камера – третий лист» и «поле – третий лист» она существенно выше (оба по 10,9 мкм), а в варианте «камера – второй лист» достигала 13,1 мкм. Минимальные средние значения длины ЗКУ отмечены у линии 528 (47,8 мкм) и сортов Одесская 16 (40,3 мкм), Прима одесская (46,6 мкм), а максимальные – у сортов Лузановка одесская (56,7 мкм), Одесская красноколосая (59 мкм) и Безостая 1 (56,3 мкм), а также у линии 212 (53,5 мкм).

Коэффициент вариации (CV) признака «длина ЗКУ» варьировал у конкретных генотипов в различных вариантах опыта от 6% (низкий) до 19% (средний), что указывает на довольно существенную однородность используемого материала по указанному признаку. При этом большее количество генотипов (21 образец) с низким коэффициентом вариации отмечали в варианте «поле – третий лист», а со средним (7 образцов) – в искусственных условиях независимо от ярусности листа. В условиях камеры коэффициент вариации всех генотипов по соответствующему метамеру оставался равным таковому, полученному в полевых условиях или несколько увеличивался по сравнению с последним. Исключение составили только сорт Одесская красноколосая и линия 528 (второй лист), у которых отмечена обратная закономерность.

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ

**Средние значения ( $\bar{x}$ ) и коэффициент вариации (CV) длин ЗКУ второго и третьего листа линий и сортов мягкой озимой пшеницы в различных условиях**

Линии, сорта	Поле				Камера			
	2-й лист		3-й лист		2-й лист		3-й лист	
	$\bar{x}$ , мкм	CV, %	$\bar{x}$ , мкм	CV, %	$\bar{x}$ , мкм	CV, %	$\bar{x}$ , мкм	CV, %
120	52,0	8	55,3	8	48,6	12	48,0	11
181	51,6	7	52,7	8	43,1	9	53,2	12
212	51,5	6	53,7	8	53,5	18	49,8	11
430	53,4	9	50,2	7	51,1	12	50,5	10
451	52,0	9	53,5	7	47,0	12	48,2	14
496	51,9	8	55,9	8	46,4	11	50,5	8
504	54,0	9	54,5	7	44,9	13	53,0	7
513	51,3	9	50,8	7	46,0	16	47,1	11
528	50,9	11	47,8	6	42,3	13	49,4	10
529	51,5	8	51,3	7	49,2	12	52,7	8
551	52,6	11	52,7	7	43,3	11	54,1	11
558	53,4	10	56,0	8	50,1	10	55,8	12
559	52,1	9	55,7	8	45,8	15	55,0	17
563	52,7	10	51,4	6	47,7	7	52,0	11
Альбатрос одесский	54,4	9	56,9	14	47,6	13	51,6	15
Безостая 1	55,0	8	56,7	8	47,8	10	56,3	11
Лузановка одесская	56,7	12	54,8	9	45,1	13	49,4	12
Обрий	51,6	10	56,2	9	48,6	10	54,3	12
Одесская 16	50,6	7	51,4	8	40,3	9	47,4	13
Одесская красноколосая	52,7	13	59,0	10	48,5	11	55,8	9
Порада	55,9	9	57,2	9	50,5	10	54,3	9
Прима одесская	53,4	9	55,3	9	51,6	13	46,6	19
F <sub>расчетное</sub>	1,52		6,15		2,89		6,15	
НСР <sub>0,05</sub>	-		0,2		0,4		0,5	

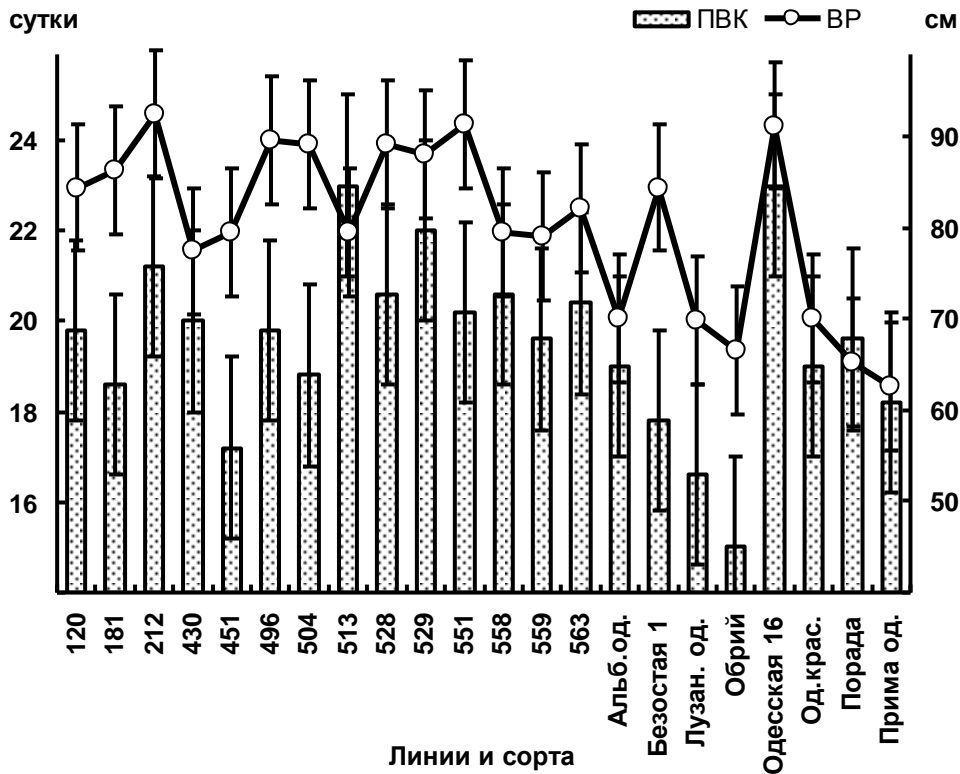
Доля генотипа в фенотипической вариации признака «длина ЗКУ» в условиях искусственного климата составила 27,4% и 12,8% для второго и третьего листа, соответственно. В полевых условиях данный показатель по результатам оценки второго листа был низким и равным всего 9,4%, а третьего листа значительно выше – 50,4%. Следовательно, доля генотипической изменчивости в общем фенотипическом варьировании признака максимально выражена в полевых условиях при оценке третьего листа.

В полевых условиях у всех генотипов отмечали увеличение длины ЗКУ второго листа по сравнению с искусственными условиями ( $r=0,31$ ), за исключением линии 212, у которой наблюдали обратную закономерность. В то же время на длину ЗКУ третьего листа условия выращивания практически не влияли ( $r=0,56$ ). Исключение составляли две линии 496 и 120, у которых длина замыкающих клеток устьиц листа достоверно больше в полевых условиях. Полученные результаты не подтверждают литературные данные о высокой стабильности изучаемого признака в различных условиях (Limin, Fowler, 2000), что, видимо, связано с

условиями проведения опытов. Вышеуказанные исследования проводились только в искусственных условиях при одинаковой продолжительности дня, интенсивности освещения и довольно небольшом интервале температур (при +4 и +17°C). В наших исследованиях варианты различались по продолжительности дня (см. раздел «Методика»), интенсивности освещения, и более значительным был интервал температур (+2°C в камере и до 25°C в дневные часы в поле).

Взаимосвязь оценок длины ЗКУ второго и третьего листа в искусственных условиях отсутствовала ( $r=0,09$  при  $P=0,05$ ), а в полевых условиях была существенной и средней по величине ( $r=0,56$  при  $P=0,05$ ).

Для оценки сопряженности длины ЗКУ второго и третьего листьев с продолжительностью периода до колошения и высотой растений в полевых условиях учитывали два последних признака (рисунок). Колошение (отсчет от 1-го мая) изучавшихся генотипов отмечали на 15-е (Обрий) – 23-и сутки (Одесская 16 и 513 линия), а высота растений составляла от 63 (Прима одесская) до 92 см (212 линия). Изученные генотипы достоверно различались как



### Продолжительность периода до колошения (ПВК) и высота растений (ВР) изученных генотипов в полевых условиях, Одесса, 2010 г.

Альб. од. – Альбатрос одесский; Лузан. од. – Лузановка одесская; Од. крас. – Одесская красноколосая; Прима од. – Прима одесская

по продолжительности периода до колошения ( $НСР_{0,05}=2$  сут), так и по высоте растений ( $НСР_{0,05}=7$  см). Корреляция длины ЗКУ второго ( $r=-0,52$ , при  $P=0,05$ ) и третьего листа ( $r=-0,46$ , при  $P=0,05$ ) с высотой растений (ВР) была слабой, а с продолжительностью периода до колошения (ПВК) по второму листу – средней ( $r=-0,61$  при  $P=0,05$ ), а по третьему – слабой ( $r=-0,51$  при  $P=0,05$ ), но во всех случаях она была отрицательной и достоверной. Следовательно, устьица скороспелых короткостебельных генотипов должны характеризоваться, как правило, более длинными замыкающими клетками, а позднеспелые высокорослые – более мелкими.

Таким образом, генотипы озимой пшеницы существенно различаются по длине ЗКУ второго и третьего листа. Средние значения длины замыкающих клеток третьего листа менее вариабельны в различных условиях выращивания по сравнению с таковыми второго листа. Доля вклада генотипа в общую фенотипическую изменчивость признака «длина ЗКУ» более высокая при оценке третьего листа в полевых условиях. Следовательно, оценка третьего листа в полевых условиях наиболее приемлема для исследования данной анатомической

структуры. Недостаточно высокие показатели коэффициента корреляции длины замыкающих клеток устьиц с продолжительностью периода до колошения и высотой растений свидетельствует о слабой прямой взаимосвязи данных характеристик.

## ЛИТЕРАТУРА

- Абрамова Л.И., Орлова И.Н. Методические указания по цитологической и цитозембриологической технике. – Л., 1982. – 119 с.
- Давыдов В.А. Количественные характеристики устьичного аппарата растений яровой пшеницы сорта Саратовская 29 при остром дефиците воды // С.-х. биология. – 2007. – Вып. 5. – С. 90-93.
- Калмыков К.Ф. О корреляции анатомического строения, степени скороспелости и агрономической засухоустойчивости различных сортов кукурузы // Физиология устойчивости растений: Труды конф. (Москва, 3-7 марта 1960 г.). – М., 1960. – С. 436-440.
- Леви Н.Л., Вишневский С.О., Мишнев А.В. Анатомо-морфологические и цитохимические исследования полиплоидизации у мяты // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – 2004. – Вып. 14. – С. 35-44.

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ

- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Просвещение, 1990. – 352 с.
- Мокану Н.В., Файт В.И. Различия эффектов аллелей генов *Vrd1* и *Ppd-D1* по зимо- морозостойкости и урожаю у озимой пшеницы // Цитология и генетика. – 2008. – Т. 42, № 6. – С. 28-35.
- Орлюк А.П., Гончарова К.В. Проблема поєднання високої продуктивності та екологічної стійкості сортів озимієї пшениці // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. праць. – К.: Аграрна наука, 2003. – С.180-187.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – М., 1973. – 327 с.
- Тулицын Н.В., Захаров В.Г. Наследование длины устьиц на пластинке первого листа всходов // Доклады РАСХН. – 1996. – № 2. – С. 9-10.
- Файт В.И. Эффекты генов контроля продолжительности яровизации (*Vrd*) по агрономическим признакам у озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 2007. – Т. 41, № 5. – С. 18-26.
- Чернецкая А.Г., Валетов В.В. Ранняя диагностика сортов черной смородины (*Ribes Nigrum* L.) на устойчивости к мучнистой росе (*Sphaerotheca mors-uvae* (Schw) Berk. et Gurt) // Весті Національної Академії наук Беларусі. – 2007. – № 1. – С. 66-70.
- Hoogendoorn J., Rickson J.M., Gale M.D. Differences in stem and leaf anatomy related to plant height of tall and dwarf wheat (*Triticum aestivum* L.) // J. Plant Physiol. – 1990. – V. 136. – P. 72-77.
- Limin A.E., Fowler D.B. The influence of cell size and chromosome dosage on cold-hardiness expression in the *Triticeae* // Genome. – 1989. – V. 32. – P. 667-671.
- Limin A.E., Fowler D.B. Morphological and cytological characters associated with low-temperature tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) // Can. J. Plant Sci. – 2000. – V. 80. – P. 687-692.
- Tonkinson C.L., Lyndon R.F., Arnold G.M., Lenton J.R. The effects of temperature and the *Rht3* dwarfing gene on growth, cell extension, and gibberellin content and responsiveness in the wheat leaf // J. Exp. Bot. – 1997. – V. 48. – P. 963-970.

Поступила в редакцию  
20.10.2010 г.

## GENETIC DIVERSITY ON STOMATA GUARD CELLS LENGTH IN WINTER WHEAT

N. P. Lamari, V. I. Fayt

*Plant Breeding & Genetics Institute –  
National Center of Seed and Cultivar Investigation  
National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine  
(Odesa, Ukraine)*

Genetic diversity on leaf stomata guard cells lengths in winter wheat grown in the field and those grown in the phytotron at +2°C and 16-hour photoperiod has been studied. Eight winter wheat cultivars of different origin and 14 recombinant-inbred lines F<sub>5</sub> Odesskaya 16 / Bezostaya 1 with their parents have been analyzed. Significant homogeneity of the research material for this parameter (CV<19) is noted. Parameter estimations correlated while evaluating the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> leaves in the field ( $r=0,56\pm0,184$ ) and they did not correlate at temperature +2°C in growth chamber ( $r=0,09\pm0,223$ ). The length of stomata guard cells was not tightly related to the heading date and plant height ( $R^2=0,36$ ). Evaluation of the stomata guard cells length is preferable in the 3<sup>rd</sup> leaf under field environment ( $p_{in}^G=50,4\%$ ).

**Key words:** *Triticum aestivum*, stomata, guard cell, genetic diversity

**ЛАМАРИ, ФАЙТ**

**ГЕНЕТИЧНЕ РІЗНОМАНІТТЯ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ  
ЗА ДОВЖИНОЮ ЗАМИКАЮЧИХ КЛІТИН ПРОДИХІВ**

Н. П. Ламарі, В. І. Файт

*Селекційно-генетичний інститут –  
Національний центр насіннезнавства і сортовивчення  
Національної академії аграрних наук України  
(Одеса, Україна)*

Досліджено генетичну різноманітність озимої м'якої пшениці за довжиною замикаючих клітин в польових умовах і камері штучного клімату при температурі вирощування +2°C і 16-годинній тривалості дня. Проаналізовано вісім озимих сортів пшениці різного походження, 14 рекомбінантно-інбредних ліній з комбінації схрещування Одеська 16 / Безоста 1. Відзначена істотна однорідність використаного матеріалу за довжиною замикаючих клітин продихів (ЗКП) листка ( $CV < 19$ ). Показана практично повна відсутність взаємозв'язку оцінок другого і третього листка за довжиною замикаючих клітин при температурі вирощування +2°C ( $r = 0,09 \pm 0,223$ ) та наявність його в польових умовах ( $r = 0,56 \pm 0,184$ ). Низький коефіцієнт детермінації ( $R^2 = 0,36$ ) довжини ЗКП з тривалістю періоду до колосіння і висотою рослин у більшості зразків свідчить про відсутність тісного взаємозв'язку їх варіювання. Оцінка довжини замикаючих клітин продихів третього листка в польових умовах найбільш прийнятна для виявлення генетичного різноманіття за вказаною ознакою ( $p_G^{in} = 50,4\%$ ).

**Ключові слова:** *Triticum aestivum L.*, продихи, замикаючі клітини, генетичне різноманіття