

ПРИЛОЖНИ РЕЗУЛТАТИ НА ОТДАЛЕЧЕНАТА ХИБРИДИЗАЦИЯ
ПРИ ОБИКНОВЕНАТА ПШЕНИЦА (*T.aestivum* L.)
В ДЗИ - ГЕНЕРАЛ ТОШЕВО

Пенко Спецов

Добруджански земеделски институт - Генерал Тошево

Резюме

Спецов, П., 2004. Приложни резултати на отдалечената хибридизация при обикновената пшеница (*T.aestivum* L.) в ДЗИ-Генерал Тошево.

С настоящата работа се прави преглед на извършените кръстоски между обикновената пшеница и видове от род *Aegilops* в периода 1983-1998 г., а също и на линиите, получени чрез отбор от тях. В отдалечените кръстоски участват четири вида (*Ae.variabilis*, *kotschyi*, *ovata* и *speltoides*), шест сорта зимна пшеница, Китайска пролетна и две линии (заместена и добавена по 1U-хромозома). Проведен е отбор на устойчивост към брашнеста мана за създаване на изходен материал и подобряване на зимни сортове пшеница по отношение на устойчивостта и други агрономически признаци. Новополучените линии са изследвани за хромозомен брой, кариотип и наличие на транслокации при отбиране и след няколкократното им репродуциране при полски условия. Успешен е опитът за прехвърляне на ген/и/ за устойчивост към брашнеста мана от 1U-хромозома на *Ae.variabilis* в сорт Чародейка, както и за подобряване на пшеничните родители в кръстоските Русалка x *Ae.variabilis* и Янтър /Тракия/ x *Ae.ovata* по признаците устойчивост към листни патогени и продуктивност.

Ключови думи: Видове *Aegilops*, *Triticum aestivum*, Отдалечени кръстоски, Линии пшеница, Подобвени признаци

Abstract

Spetsov, P., 2004. Practical results from wide hybridization in common wheat (*T.aestivum* L.) at DAI-General Toshevo.

Wide crosses between common wheat and species of *Aegilops* made during 1983-1998, as well as the lines selected from them, were listed. Four species (*Ae.variabilis*, *kotschyi*, *ovata* and *speltoides*), six winter type wheats, Chinese Spring and two lines (substitution and addition with regard to the chromosome 1U pair) were included in crosses. Selection for resistance to the powdery mildew pathogen (*Blumeria graminis* f.sp.*tritici*) was carried out to develop initial material and to improve the winter type cultivars in relation to the fungi resistance and some other agrobiological characters. The newly obtained lines were investigated for chromosome number, karyotype and presence of translocations at the time of selection and after several reproductions in

field trials. Successful attempts were made to transfer the *Pm* gene(s) from 1U of *Ae.variabilis* into variety Charodeika and to improve the wheat parents in the crosses Rusalka x *Ae.variabilis* and Yantar (Trakia) x *Ae.ovata* for resistance to foliar pathogens and productivity.

Key words: *Aegilops* Species, *Triticum aestivum*, Wide Crosses, Wheat Lines, Improved Characters

УВОД

Отдалечената хибридизация е селекционен метод за прехвърляне на ценни признаци от дивите видове в културните растения с оглед на тяхното подобряване. Според плоидността и геномния състав дивите родственици на обикновената пшеница (*Aegilops* и *Triticum*) се разделят на първични, вторични и третични източници. Единствен *Aegilops squarrosa* се причислява към първичните източници, тъй като е донор на D-генома в хексаплоидната пшеница. Останалите видове *Aegilops* се отнасят към вторичните и третични полиплоидни форми, притежаващи най-малко един хомоложен на пшеницата геном. Генетичен трансфер от видове на тези две групи е най-труден, особено когато желаните гени се намират в нехомоложни на пшеницата геноми.

През последните 20 години сме свидетели на успешни кръстоски и генетични трансфери от дивите видове не само при пшеницата, но и при всички земеделски култури (Friebe et al., 1996; Bommineni & Jauhar, 1997; Harjit-Singh et al., 2000). Най-интересни за селекцията са транслокационните линии, в основата на които лежат няколко основни механизми за получаване на полезни за практиката транслокации: 1- индуциране на хомоложна хромозомна конюгация; 2 - облъчване на полен, семена и други органи; 3 - приложение на тъканни култури; 4 - използване на гаметоцидни гени.

Целенасочени кръстоски по отдалечена хибридизация в Добруджанския земеделски институт – Генерал Тошево започват през периода 1963-1972 г. (Цветков, 1996) между обикновената и твърдата пшеница, и ръжта (*Secale cereale* L.). През 1965 г. се правят кръстоски на пшеница с пирей (*Agropyron glaucum*, *Agr. elongatum*; Цветков, 1996). Значителен по обем работа е извършена с използване на нулизомиата по 5В-хромозома в отдалечената хибридизация след 1978 г. за създаване на полиплоидни форми и линии, устойчиви на болести. Видовете от *Aegilops* са най-масово използвани в кръстоски за изучаване на хетерозисния ефект и създаване на хибридна пшеница (Гоцов, 1980; Панайотов, 1986). Четири вида - *Ae.squarrosa* var.*strangulata*, *Ae.speltoides*, *Ae.variabilis* и *Ae.kotschyi* - са включени главно за създаване на амфидиплоиди (Spetsov & Savov, 1992). Част от тях са използвани за бекросиране и отбор на линии за създаване на изходен материал за селекцията.

С настоящата работа се прави преглед на извършените кръстоски между обикновената пшеница и видове *Aegilops* в периода 1983-1998 г., както и характеристика на отбраните линии пшеница до момента за доказване на прехвърлени гени за устойчивост. Новополучените линии са изпитвани в конкурсни опити за сравняване с пшеничните родители по отношение на гъбни болести, добив и други агрономически признаци. Линиите са изследвани цитологично при отбора и след няколкократното им репродуциране в полски опити.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За периода 1983-1998 г. са извършени 9 кръстоски. В тях участват седем сорта обикновена пшеница, четири вида *Aegilops* (*Ae. variabilis*, *kotschyi*, *ovata* и *speltoides*) и две линии, продукти на кръстоската Русалка x *Ae. variabilis* /таблица 1/. Линия 11-8 е заместена, а № 3 е добавена по генотип с участието на 1U-хромозома от *Ae. variabilis*. Дивите видове произхождат от колекцията на ДЗИ-Генерал Тошево. Новополучените линии са отбрани по признака устойчивост към брашнеста мана *Blumeria graminis* f.sp.*tritici* и цитологично проучени съгласно възприетите методики (Спецов, 1998). Една част от тях са оценени за устойчивост към 11 изолата на брашнестата мана и 8 раси на кафявата ръжда в Института по селекция на растенията във Фрейзинг-Вейхенстефан, Германия. Линиите са изпитани в конкурсен сортов опит в ДЗИ-Генерал Тошево при парцела от 10 m² в 5 повторения заедно с пшеничните родители и Пряспа като стандарт за продуктивност.

Таблица 1. Отдалечени кръстоски и селекционни номера на отбраните линии

Кръстоска	Селекционни номера	
	2n = 44	2n = 42
Русалка x <i>Ae. variabilis</i>	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18-1, 121	5-2, 6-9, 11-8, 11-9, 28-7, 28-1, 37-3, 37-7, 52-1, 104-4, 104-5
11-8 (1U/1B заместена) x Траяна		201, 382, 263-2, 267-2,
№ 3 (2n=42+1U добавена) x Траяна		144-1, 144-6,
Чародейка x 11-8 (1U/1B заместена)	38, 52, 113, 136, 182	9, 15/16, 27, 17, 79, 131, 150, 268, Var.1, Var.2, 43/1-9
(Китен x <i>Ae. kotschyi</i>) x Китен	92-4, 94-2, 94- 2а, 92-3а, 95- 3д, 124-4	92-3, 94-4, 95-1, 95-3б, 95-3в
Янтър x <i>Ae. ovata</i>	64-5, 64-7, 77- 1, 105-7, 124	97з, 97-2, 121, 122-1, 125, 126, 127', 127''
Тракия x <i>Ae. ovata</i>	107-2, 121-5, 121/7	121-8, 121з
Янтър x <i>Ae. speltoides</i>	37а-2-7, 37г-4	
(К. пролетна x <i>Ae. speltoides</i>) x Чародейка	39в-4-3, 39ж-10-5, 39ж-10-8, 39н-6-3, 39н-6-9, 39н-10-10	

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Русалка x *Ae. variabilis*: Кръстоската е извършена през 1984 г. Приложено е облъчване с Кобалт 60 на част от F₁-семената /доза от 100 Gy/, което групира хибридните растения в две групи: 1 - с произход от необлъчени хибридни семена и 2 - с произход от облъчени семена. Във всяка група е извършен отбор на устойчиви растения към брашнеста мана във възрастова фаза. Засети са семена от изолирани класове на отбраните растения. Получени са общо 13 добавени линии по генотип /2n=44/, като добавената е 1U-хромозома от дивия вид. Линиите се различават по

46 **Таблица 2.** Използване в селекцията на видове от род *Aegilops* за създаване на изходен материал и подобряване на отделни сортове обикновена пшеница

Вид	Геноми (n)	Хромозоми (2n)	Сорт пшеница	Приложени селекционни методи и други техники	Генотип на получените линии		Подобрени признаци
					2n=44	2n=42	
<i>Ae. variabilis</i>	US	28	Русалка Траяна Чародейка	Беккросиране и отбор Облъчване на F ₁ семена, беккросиране и отбор Беккросиране и отбор Облъчване на полен и незрели F ₁ семена, антерна култура	Добавени Добавени	Заместена: 1U/1B Транслокационни Заместени: 1U/1A, 1U/1D Заместени: 1U/1A, 1U/1B, 1U/1D Транслокационни	Устойчивост към брашнеста мана и кафява ръжда, висок добив на зърно Устойчивост към брашнеста мана Устойчивост към брашнеста мана
<i>Ae. kotschy</i>	US	28	Китен	Амфилоид х Китен, отбор	Добавени	Заместени: 1U/1A, 1U/1B, 1U/1D	Устойчивост към брашнеста мана, високо съдържание на протеин в семената
<i>Ae. ovata</i>	UM	28	Янтър	Беккросиране и отбор	Добавени	Заместени: 1U/1B, 6U/? Транслокационна	Устойчивост към брашнеста мана Висок добив на зърно
<i>Ae. speltoides</i>	S	14	Тракия Янтър Чародейка	Беккросиране и отбор Беккросиране и отбор Беккросиране и отбор	Добавени	Заместена: 6U/? Транслокационна	Устойчивост към брашнеста мана Висок добив, толерантност към абиотичен и биотичен стрес Устойчивост към брашнеста мана и кафява ръжда

някои морфологични признаци- например по форма и цвят на семената се разделят на четири групи, а по реакцията към жълта ръжда - на две (Spetsov et al., 1992).

Получени са 11 линии, които са хексаплоидни $/2n=42/$. Линии 5-2, 6-9, 11-8 и 11-9 са заместени по генотип. Най-пълно изследвана е линия 11-8, в чийто генотип хромозома 1В е изместена от сателитната 1U-хромозома. Линии 28-7, 28-1, 37-3, 37-7, 104-4 и 104-5 се различават от дизомнозаместената форма по цвят на класа, озърненост и хромотип. Тези линии не съдържат чуждата 1U-хромозома (Спецов, 1998). Две от тях, 28-1 и 28-7 произхождат от необлъчените F_1 -семена, а останалите четири - от облъчените хибридни семена. По форма, цвят на класа /цвят на глумите в зрялост/ и сателитни хромозоми тези шест линии не се различават от Русалка, с изключение на восьчната покривка на растението и устойчивостта към брашнеста мана. Двете линии /с произход от не облъчената група/ нямат този признак и приличат на родителския сорт пшеница, докато линиите с произход от облъчената група семена са восьчни на цвят. Линии 28-7, 28-1, 37-7 и 37-3 проявяват подобрена устойчивост към брашнеста мана във възрастова фаза, но са чувствителни във фаза 2-3 лист.

Изследванията в Германия показват, че линиите от тази кръстоска се различават една от друга според реакцията към 8 изолати на кафявата ръжда, а също и от родителите. Изпитани в полски опит за 4 години, линиите превишават Русалка по добив със средно 65 кг/дка. Две от тях, 104-4 и 104-5, са по-продуктивни от родителския сорт с 80 кг/дка /доказана разлика/. На основата на изложените факти - хромотип ($2n=42$, липса на чуждата 1U-хромозома); подобрена устойчивост към брашнеста мана във възрастова фаза; устойчивост към отделни изолати на кафявата ръжда, различна от тази на родителите; по-висока продуктивност от пшеничния сорт - можем да заключим, че новополучените линии са транслокационни по генотип, притежаващи гени за устойчивост към брашнеста мана и кафява ръжда с произход от *Ae. variabilis* /таблица 2/. Това ги прави перспективни като изходен материал за устойчивост и добив на зърно в селекцията.

Кръстоска 11-8 x Траяна: В тази кръстоска вниманието бе насочено към отбор на кафявокласи растения, тъй като те съдържат чуждата хромозома, носител на устойчивостта към брашнеста мана. Изпитани в КСО, получените линии показват ниска продуктивност. Не успяхме да намерим транслокация по късото рамо на 1U-хромозома, където се намира генът за кафяв цвят на глумите. Отбор на белокласо растение в линия 201 даде началото на хомозиготна линия със същия номер, която по продуктивност се изравнява с Пряспа /таблица 3/.

Таблица 3. Добив на зърно в КСО (кг / парцела-10 m²)
от перспективни линии пшеница

Сорт Линия	Кръстоска	2002		2003	
		кг	%	кг	%
Пряспа-ст		8.34	100	3.58	100
201	11-8 (1U/1B) x Траяна	8.42	101	3.56	99.4
Янтър		8.10	97.1	3.18	88.8
97-2	Янтър x <i>Ae. ovata</i>	8.41	100.8	3.24	90.5
Тракия		7.40	88.7	3.74	104.5
121-8	Тракия x <i>Ae. ovata</i>	7.10	85.1	4.20	117.3

Кръстоска № 3 x Траяна: В резултат на целенасочен индивидуален отбор по устойчивост към брашнеста мана, в F₅-поколение е отбрано потомство № 144. Две растения от него (2n=42) дават началото на линии. Цитологичният анализ показва, че в тях присъства чуждата 1U-хромозомна двойка заедно с пшеничните 1В- и 6В-хромозоми. Следователно новите линии са заместени по генотип и дават кафявооцветени класове.

Чародейка x 11-8: Приложено е облъчване на прашеца на дизомнозаместената форма и допълнително облъчване на незрелите зародиши. Отбрани са както добавени по генотип, така и заместени линии /таблица 2/. Линиите са кафявооцветени и устойчиви на брашнеста мана, тъй като съдържат 1U-хромозома. Четири линии дават нормални по цвят класове /бели, безосилести/. В соматичните клетки /42 хромозоми/ се вижда само присъствието на две сателитни хромозоми, които приличат повече на 6В-хромозома. Реакцията им към 11 изолати на брашнестата мана е различна от тази на моногенните линии-диференциатори, което е указание, че линиите притежават нов ген. Двата родителя се различават: Чародейка има един ген за устойчивост, *Pm5*, а линия 11-8 е с неидентифициран ген. Продължава изследването на четирите линии във фитопатологичен и цитологичен план за доказване на интродуциран ген/и/ за устойчивост.

(Китен x *Ae.kotschyi*) x Китен: Отбрани и получени са добавени и заместени линии с участието на 1U-хромозома от дивия вид. Всички линии са устойчиви на брашнеста мана във възрастова фаза и кафявокласи. Те отстъпват по добив на пшеничния родител, като разликите са доказани при P<0.1 %. Причината за понижена продуктивност на новите линии е в недостатъчната им зимоустойчивост и братимост, вследствие на което формират по-малък брой растения на единица площ. Заместените линии превишават Китен по съдържание на протеин в зърното. Този признак варира при тях от 16.4 до 17.0 при 13 % за пшеницата. Досега отборът на белокласи форми за получаване на транслокационни генотипове е без успех.

Янтър x *Ae.ovata*: Отборът по устойчивост към брашнеста мана доведе до създаване на добавени и заместени линии пшеница /таблица 2/. В различни линии участват 1U-, 6U- и друга /за сега неидентифицирана/ хромозома от дивия вид. 97з е заместена линия по 1U-хромозома, а 124 - добавена линия с участието на 6U-хромозома. В началото цитологичният анализ показва присъствието на двете чужди хромозоми /1U и 6U/ в линия 97-2. След тригодишно изпитване в КСО /няколкократно репродуциране/ в линията не се забелязват чуждите хромозоми. В замяна на това линията се изяви като продуктивна: средно за две години надвиши по добив Янтър с 2.9 % /таблица 3/. Това е доказателство, че в този генотип има нова транслокация в сполучливо съчетание с хромозомите на пшеницата, още повече, че са налице и забележими морфологични разлики.

Тракия x *Ae.ovata*: Чрез отбор на устойчивост към брашнеста мана са селектирани три линии с 2n=44. Хромозомният анализ идентифицира само 6U-хромозома, която се различава по морфология от хромозомите на пшеницата (Landjeva et al., 1998). Две линии са отбрани с еуплоиден хромозомен брой, 2n=42. Линия 121з е определена за заместена по генотип с участието на 6U-хромозома. В линия 121-8 не се забелязва присъствие на чужда хромозома, която да се различава визуално от останалите хромозоми. През 2003 г. тази линия се представи отлично в КСО, като изпревари по добив стандарта Пряспа с 17.3 %, а пшеничния родител с 12.3 % /таблица 3/. През 2002 г., характеризирана като много добра за

зърнопроизводството у нас, линията се представи слабо спрямо стандарта и родителския сорт. Следователно линия 121-8 притежава фактори за устойчивост към абиотичен стрес, което я прави ценен транслокационен генотип за включване в селекцията като изходен материал, а също и за генетични проучвания.

Янтър х *Ae.speltoides*: Кръстоските с дивия вид са направени през 1988 г.. Получените хибриди и амфиплоиди се отличават с много добра устойчивост към брашнеста мана във възрастова фаза /Спецов, 2000/. Отбрани са две перспективни линии, с едър клас, нормално овършаване, много добра зимоустойчивост и устойчивост към брашнеста мана. Изпитват се в контролен опит за първа година.

(К.пролетна х *Ae.speltoides*) х Чародейка: От тази кръстоска са отбрани повече линии с устойчивост към брашнеста мана. Според предварителните данни от цитологичния анализ линиите са еуплоидни. Изпитани в Германия от С. Хсам за устойчивост към брашнеста мана в млада фаза, само линия 39в-4-3 прояви реакция на устойчивост към всичките изолати в опита. След самоопрашване обаче линията дава потомство в което преобладават 41-хромозомните растения. Останалите линии се характеризират с подобрена възрастова устойчивост към брашнеста мана и нормална озърненост. Всички линии се проучват в генетичен план.

ИЗВОДИ

1. В резултат на отбор към брашнеста мана в хибридни популации, получени от кръстосване на обикновената пшеница с видовете *Aegilops variabilis*, *kotschyi*, *ovata* и *speltoides*, са отбрани и стабилизирани линии пшеница, устойчиви на листни гъбни болести.

2. Линиите 104-4 и 104-5 от кръстоската Русалка х *Ae.variabilis* и линия 97-2 от кръстоската Янтър х *Ae.ovata*, освен подобрена устойчивост към брашнеста мана и кафява ръжда, дават по-висок добив от пшеничните родители.

3. Успешно е прехвърлен ген/и/ за устойчивост към брашнеста мана в млада фаза от хромозома 1U на *Ae.variabilis* в линиите Var.1 и 43/1-9. Те се изследват за генетична локализация и идентификация на новия ген.

4. Резултатите показват, че в отдалечените кръстоски отборът по един признак може да доведе не само до подобряване устойчивостта към болести, но и до създаване на линии с по-висока продуктивност от изходния сорт пшеница.

ЛИТЕРАТУРА

- Гоцов, К., 1980. Цитоплазмена мъжка стерилност при пшеницата и нейното използване в селекцията. Земиздат, София, 143 стр.
- Панайотов, И., 1986. Автореферат на дисертация за получаване на научната степен "Доктор на науките". София, 54 стр.
- Спецов, П., 1998. Автореферат на дисертация за получаване на научната степен "Доктор на науките". София, 76 стр.
- Спецов, П., 2000. Кръстосваемост на пшеници (4х и 6х) с вида *Ae.speltoides* и получаване на F₁ хибриди. Науч. Съобщ. на СУБ, клон Добрич, т.2: 76-80.
- Цветков, Ст., 1996. Отдалечена хибридизация. В: /К.Гоцов, гл.редактор/ 50 години Институт по пшеницата и слънчогледа "Добруджа" 1941-1991. Добрич, 808 стр.
- Vommineni, V.R., P.P. Jauhar, 1997. Wide hybridization and genome relationships in cereals: an assessment of molecular approaches. *Maydica* 42: 81-105.
- Friebe, B., J.Jiang, W.J. Raupp, R.A. McIntosh, B.S. Gill, 1996. Characterization of wheat

alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. Euphytica 91: 59-87.

Harjit-Singh, H. Tsujimoto, P.K. Sakhuja, T. Singh, H.S. Dhaliwal, 2000. Transfer of resistance to wheat pathogens from *Aegilops triuncialis* into bread wheat. Wheat Information Service 91: 5-10.

Landjeva, S., G. Ganeva, N. Petrova, P. Spetsov, 1998. Cytogenetical characterization of disease resistant wheat-*Aegilops ovata* derivatives. In: A.E. Slinkard, ed., Proc. 9th Int Wheat Gen Symp v.2:64-66, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.

Spetsov, P., M. Savov, 1992. A review on amphiploids in the Triticeae, obtained in Bulgaria during 1950-1990. Wheat Information Service 75: 1-6.

Spetsov, P., S. Mihova, I. Iliev, 1992. Differentiation of six disomic wheat-*Ae. variabilis* addition lines through their phenotype and reaction to yellow rust. EWAC Newsletter 1992: 24-27.