

На правах рукописи

ШИШКИНА АЛЕКСАНДРА АЛЕКСАНДРОВНА

**ВЫЯВЛЕНИЕ ХРОМОСОМНЫХ ПЕРЕСТРОЕК И ИХ ЭФФЕКТОВ У
ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ**

03.00.15 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2009

Работа выполнена на кафедре генетики Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К. А. Тимирязева

Научный руководитель: доктор биологических наук А.А. Соловьев

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук Р.О. Давоян

кандидат биологических наук Н.Л. Большева

Ведущая организация: кафедра генетики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Защита состоится « 16 » декабря 2009 г. в 16 час. 00 мин.

На заседании диссертационного совета Д.220.043.10 при Российском государственном аграрном университете – МСХА имени К.А. Тимирязева по адресу: 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49.

Факс: (495)-976-0894

E-mail: genetics@timacad.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке им. Н.И. Железнова РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева и на сайте <http://www.timacad.ru>

Автореферат разослан « 16 » ноября 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Е.А. Калашникова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Тритикале является первым злаком, искусственно синтезированным человеком. Она удачно сочетает в себе положительные признаки пшеницы и ржи. Несмотря на то, что тритикале – сравнительно молодая культура, она получила широкое распространение благодаря возможности обеспечивать достаточно большой объем биомассы и давать хорошие урожаи зерна в широком почвенно-климатическом диапазоне. Устойчивость этой культуры к наиболее распространенным грибным заболеваниям позволяет снизить использование химических средств защиты. Яровые формы тритикале выделяются сравнительно высоким содержанием белка, высокой устойчивостью к абиотическим стрессам.

Однако, наряду с положительными качествами, яровая тритикале обладает и рядом неблагоприятных свойств, ограничивающих ее производственное использование. Это, прежде всего, продолжительный вегетационный период, высокостебельность, слабая устойчивость к прорастанию на корню и низкие хлебопекарные качества. Одним из наиболее эффективных методов решения этих проблем является хромосомная инженерия, позволяющая корректировать нежелательные признаки путем хромосомных замещений и транслокаций. Так, например, показано, что 2R/2D-замещение обеспечивает изменение тритикале по ряду признаков – уменьшение высоты растения и длины колоса, формирование укороченного, выполненного зерна, сокращение вегетационного периода и др. (Fox et al., 1990; Соловьев, Вишнякова, 1997; Aung et al., 1998; Куркиев, 2008). Замещение хромосомы 1R ржи на гомеологичную ей хромосому 1D пшеницы значительно улучшает хлебопекарные качества тритикале. В то же время это плечо 1RS несет гены устойчивости к болезням и вредителям, что успешно используется в виде межгеномных транслокаций у пшеницы. Сведения об особенностях кариотипа являются определяющими для успешной селекционной работы с яровой тритикале.

Цели и задачи. Целью исследования являлось определение хромосомного состава и оценка проявления хозяйственно–ценных признаков у линий яровой тритикале с разными кариотипами.

Исходя из этого, были поставлены следующие задачи:

1. Провести идентификацию хромосом у перспективных линий яровой тритикале методом дифференциального окрашивания хромосом.
2. Оценить исследуемые образцы по полиморфизму спектров запасных белков.

3. Провести анализ проявления хозяйственно-ценных признаков у форм с разным хромосомным составом и гибридов между ними.
4. Выявить механизм наследования 2R/2D-замещения у яровой тритикале.
5. Определить хромосомные наборы у гибридов поздних поколений.

Научная новизна результатов исследования. Впервые методом дифференциального окрашивания установлены кариотипы у ряда форм яровой тритикале и выявлен полиморфизм по рисунку дифференциального окрашивания. Установлено, что образцы Арта 59, Лена 1270 имеют полный набор хромосом субгеномов А, В и D и несут перичентрическую инверсию в хромосоме 4В. Кариотип образца Лена 86 состоит из полного набора хромосом субгеномов А, В и D без хромосомных перестроек. Образцы 131/7-235, 131/7-263, 131/7-197 имеют 2В/2D-замещение и транслокацию T:2RS.2RL-2BL. Образец Л8-4 имеет расщепление по 2R/2D-замещению. У линий Л8-606, Л8-635, Л8-626 имеется 2В/2D-замещение, а линии Л8-682, Л8-650, Л8-616 несут 2R/2D-замещение.

Впервые для яровой гексаплоидной тритикале выявлена смена 2R/2D-замещения на 2В/2D-замещение, основанная на смене унивалента в мейозе у гибридов первого поколения. Это явление установлено при скрещивании форм с 2R/2D-замещением с формами без замещений.

В поколении F₄ от скрещивания тритикале с участием формы 131/7, несущей межгеномные транслокацию и замещение, показана гетерогенность по рисунку дифференциального окрашивания между гомологами, а также по составу хромосом 2-й гомеологической группы.

Выявлен внутри- и межлинейный полиморфизм по спектрам спирторастворимых запасных белков у яровой тритикале.

Практическая ценность. Установленное явление смены 2R/2D-замещения на 2В/2D-замещение может быть использовано в селекционно-генетических программах яровой тритикале по созданию новых вариантов замещений хромосом. Идентифицированные по составу кариотипа формы могут быть использованы в селекционных программах яровой тритикале.

Обоснование и достоверность научных положений. Исследования выполнены по методикам, рекомендованным научными учреждениями страны. Все выводы и предложения подтверждены экспериментальными исследованиями, статистической обработкой полученных данных.

Апробация результатов работы. Основные положения диссертации были представлены на Международной конференции «Научное наследие Н.И. Вавилова – фундамент развития отечественного и мирового сельского хозяйства» (Москва, 2007 г.); Международной научной школе-конференции

молодых ученых «Генетика и селекция растений, основанная на современных генетических знаниях и технологиях» (Звенигород, 2008 г.); II Международной научно-практической конференции «Экспериментальный мутагенез в биологии и сельском хозяйстве» (Киров, 2009 г.); Международной научной конференции молодых ученых и специалистов Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева «Вклад молодых ученых в развитие инноваций аграрной науки» (Москва, 2009 г.), Международной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 170-летию УО БГСХА (Горки, 2009).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Идентифицированные по кариотипу линии яровой тритикале.
2. Межгеномные и внутригеномные перестройки и замещения хромосом у яровой тритикале.
3. Полиморфизм линий яровой тритикале по рисунку дифференциального окрашивания.
4. Полиморфизм линий яровой тритикале по спирторастворимым запасным белкам.
5. Наследование хромосомных перестроек в поздних поколениях яровой тритикале.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 1 в журнале, рекомендованном ВАК.

Объем и структура диссертации. Материалы диссертации изложены на ___ страницах машинописного текста и включают ___ рисунков, ___ таблиц. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследований и их обсуждения, выводов и списка литературы. Список цитируемой литературы включает ___ наименований, из них ___ иностранных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Растительный материал. Экспериментальная работа выполнена в 2006 – 2009 гг. на кафедре генетики РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, в лаборатории генетики растений Института общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН, на Полевой опытной станции и в Центре молекулярной биотехнологии РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева. В работе использованы селекционные образцы яровой тритикале из коллекции кафедры генетики РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева: 3 сестринские линии образца 131/7, несущего 2В/2D-замещение и транслокацию Т:2RS.2RL – 2BL; образец к–1185, несущий 2R/2D-замещение; а также образцы Лена 1270, Арта 59, Лена 86,

Л 8-4, сестринские линии Л8-606, Л8-616, Л8-626, Л8-635, Л8-650, Л8-682, хромосомный состав которых на момент начала исследований был неизвестен.

Исследование хромосомного состава образцов проводили с использованием С-метода дифференциального окрашивания хромосом по методике, разработанной в лаборатории функциональной морфологии хромосом Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН (Большева и др., 1984; Badaev et al., 1985; Badaeva et al., 1994). Кариотипы анализировали с помощью микроскопа Leits-Orthoplan, с использованием иммерсионного объектива 100^x Arochromat. Фотографировали цифровой камерой Leica DFC 280. Для составления кариотипа использовали пакет программ Adobe Photoshop 7.0. Идентификацию дифференциально окрашенных хромосом осуществляли на основании обобщенной видовой идиограммы хромосом А-, В- и D-геномов пшеницы (Badaeva et al., 1990; Gill et al., 1991a; Бадаева и др., 2005) и стандартной кариограммы хромосом ржи по Schlegel с соавторами (1986, 1998).

Электрофорез запасных белков проводили по протоколу белкового фореа Singh et al. (1991) с некоторыми модификациями. Использовался метод одномерного SDS – PAGE-электрофореза. Экстракцию глиадинов осуществляли 70%-ным этанолом. Для разделения спектров белков применяли 30 и 40% полиакриламидный гель. Сила тока в концентрирующем геле – 15мА, в разделяющем – 30 мА. Для изучения отбирали по 100 зерновок от каждого образца.

Скрещивания образцов осуществляли по неполной диаллельной схеме по общепринятой методике с изоляцией кастрированных колосьев и опылением твел–методом (Мережко и др., 1973). Родительские формы и гибриды выращивали в полевых условиях, посев образцов осуществляли вручную. Наблюдения, учеты и анализы проводили согласно методическим указаниям ВИРа по изучению мировой коллекции пшеницы (1985).

Растения анализировали по показателям: высота, общая и продуктивная кустистость, длина колоса, число колосков, число зерен с главного колоса, масса зерна с главного колоса и масса 1000 зерен, озерненность колоса и процент проросших зерен.

Статистические показатели и достоверность различий рассчитывали по Доспехову (1985) и с использованием пакета компьютерных программ «AGROS 2.7» (Мартынов, 1997).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Исследование кариотипов образцов яровой тритикале методом дифференциального окрашивания

Тритикале является удобной моделью для цитогенетических исследований. Яровая тритикале имеет в этом отношении преимущество перед озимой вследствие отсутствия опасности утраты или ухудшения одного из важнейших показателей ржи – зимостойкости. Всё это позволяет в большем количестве иметь разные хромосомные варианты. В коллекции яровой тритикале кафедры генетики РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева разными методами показано наличие сортообразцов с различными хромосомными вариантами (Соловьев, 2000; Карлов и др., 2000; Divashuk, Soloviev, 2005; Дивашук, 2007; Дивашук и др., 2007). Эти исследования позволили выявить форму тритикале, несущую замещение и крупную межгеномную транслокацию.

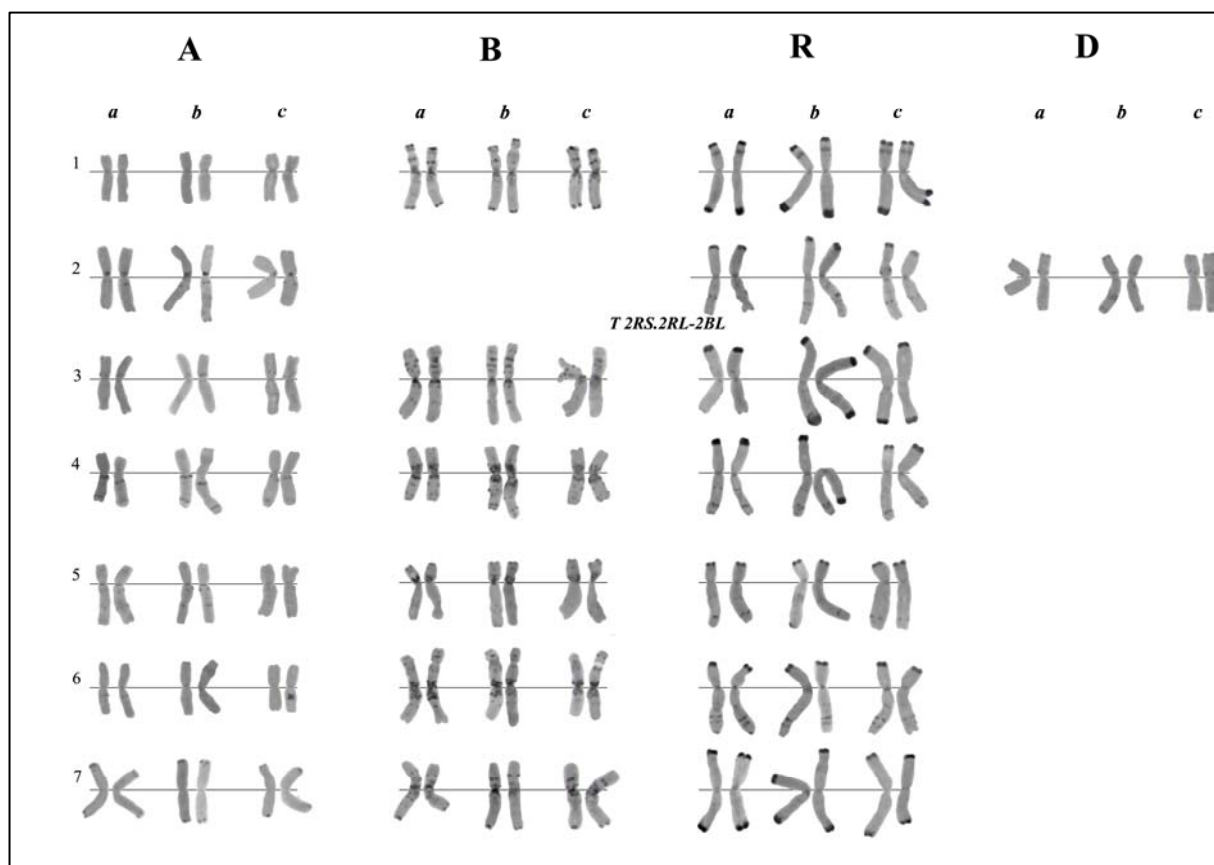


Рис. 1. Кариотипы сестринских линий образца 131/7: а – 131/7-263; б – 131/7-235; с – 131/7-197; T:2RS.2RL-2BL – хромосома, несущая данную транслокацию.

Поддержание в коллекциях образцов с различными хромосомными вариантами требует их цитологического анализа. При размножении таких форм

возможна утрата интересующих вариантов. В данной работе для кариотипирования использовали 3 сестринские линии, отобранные по морфологическим признакам из **образца 131/7**: 131/7-197, 131/7-235 и 131/7-263. Установлено, что изучаемые линии наряду с 2В/2D-замещением и транслокацией T:2RS.2RL-2BL, которые имеются у исходного образца 131/7 (Дивашук, 2007), обладают полиморфизмом по рисунку дифференциального окрашивания (рис. 1). Основные отличия между линиями заключались в проявлении некоторых бэндов у гомологичных хромосом. Наиболее полиморфными оказались хромосомы 2А, 4А, 5А, 6А, 7А, 1В, 3В, 7В, 3R, 4R и 2D. Линии 131/7-235 и 131/7-263 имели сходный рисунок дифференциального окрашивания хромосом. В то же время следует отметить, что у линии 131/7-263 хромосома 7В заметно отличалась от гомологов двух других сестринских линий большим количеством гетерохроматина, а хромосома 3R – отсутствием теломерного блока в длинном плече. Присутствие у всех изученных сестринских линий замещения и транслокации, выявленных у исходного образца, свидетельствует о достаточной цитогенетической стабильности. В то же время обнаруженный полиморфизм по рисунку дифференциального окрашивания у сестринских линий свидетельствует о продолжении формообразовательного процесса. Это согласуется с данными других исследователей, в том числе и по изучению морфологии хромосом пшеницы и ржи в геноме тритикале (Gustafson, 1976; Бадаева, 1984; Alkhimova et al., 1999).

Образец Арта 59 является гексаплоидной тритикале и содержит в своем кариотипе полные наборы хромосом всех трех родительских субгеномов – AABBRR (рис. 2А). У этого образца выявлена перичентрическая инверсия в хромосоме 4В, которая встречается у ряда гексаплоидных видов пшеницы (Бадаева, 2000).

Образец Лена 1270 имеет сходный с образцом Арта 59 кариотип, в котором также в полном составе присутствуют хромосомы родительских субгеномов и он является полнокомплектным. Кроме того у этого образца также имеется инверсия в хромосоме 4В.

Следует отметить, что в кариотипах этих линий не выявлено полиморфизма по рисунку дифференциального окрашивания. Вероятно, это обусловлено нормальным прохождением синапсиса хромосом в мейозе и, как следствие, меньшим количеством нарушений и, соответственно, вариантов кариотипов.

У **образца Лена 86** установлен полный набор хромосом всех трех родительских субгеномов – А, В, и R (рис. 2Б). Он является цитогенетически стабильным и не содержит полиморфных участков хромосом, выявляемых методом дифференциального окрашивания.

Изучение кариотипа **линии к-1185** показало, что она является гексаплоидной, $2n=42$. Субгеномы А и В пшеницы представлены полными наборами хромосом. Субгеном R ржи представлен только 6 парами хромосом – 1R, 3R, 4R, 5R, 6R, и 7R. Пара хромосом 2R ржи замещена гомеологичной парой хромосом пшеницы 2D (2R/2D-замещение), что соответствует ранее полученным данным (Соловьев, 2000). Следует отметить, что эта линия является цитогенетически стабильной, у нее не выявлено полиморфизма, как по проявлению замещения, так и по рисунку дифференциального окрашивания.

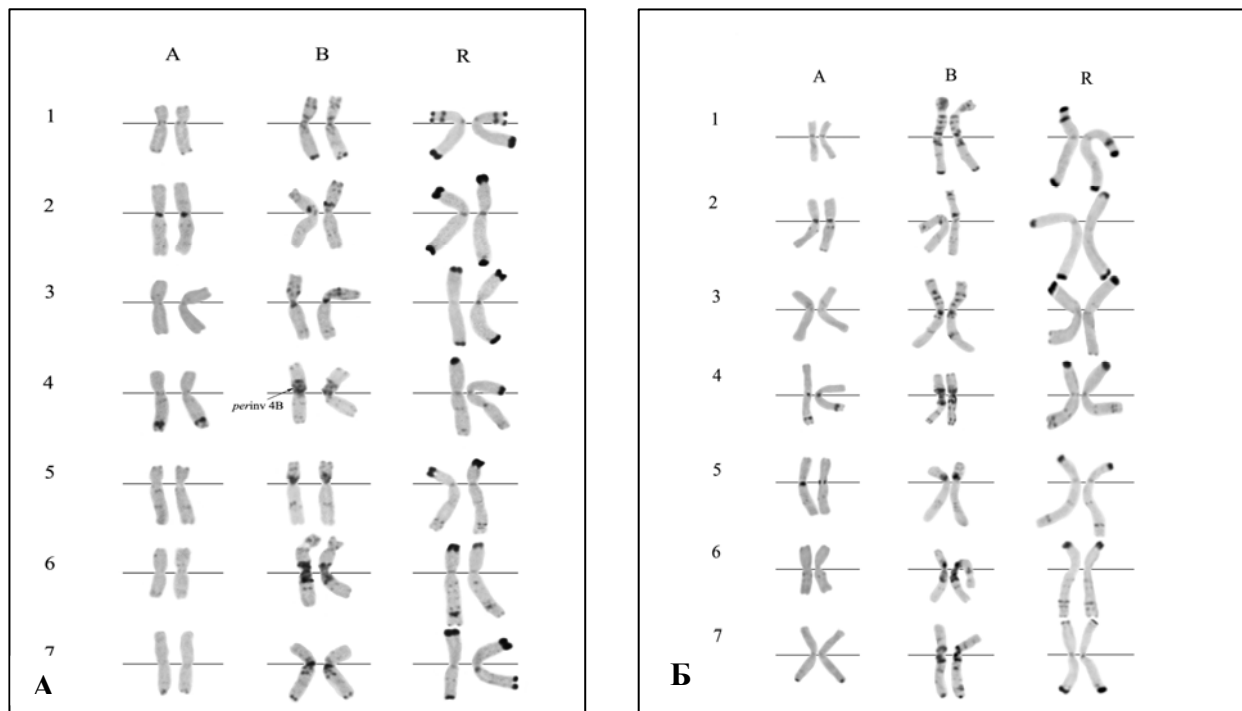


Рис. 2. А – кариотип образца Арта 59 (стрелкой отмечена перицентрическая инверсия в хромосоме 4В). Б – кариотип образца Лена 86

Цитогенетическая стабильность является одним из существенных показателей для тритикале. Среди селекционных номеров кафедры генетики имеется ряд образцов, характеризующихся набором ценных признаков, включая небольшую высоту растения, сравнительно короткий вегетационный период и др. Для анализа мы использовали два образца, полученные от скрещивания с участием формы к-1185 с формой тритикале без замещений хромосом. Нами установлено, что **образец Л 8-4**, обладая ценными агрономическими признаками, характеризуется наличием растений с разными кариотипами. Среди растений встречаются как полнокомплектные (AABBRR), так и формы с 2R/2D-замещением (рис. 3). Кроме того, практически все хромосомы этого образца характеризуются высоким полиморфизмом гетерохроматиновых районов. Полиморфизм проявляется не только в

интенсивности окрашивания бэндов, но и в наличии разных вариантов их проявления. Наиболее полиморфными являлись хромосомы 2A, 4A, 2B, 3B, 5B, 2D, 2R и 6R. Характер окрашивания длинных плеч 4B и 6B хромосом позволил установить наличие реципрокной транслокации T:4BS.4BL-6BL и T:6BS.6BL-4BL, распространенной среди сортообразцов мягкой пшеницы (Бадаева, 2000).

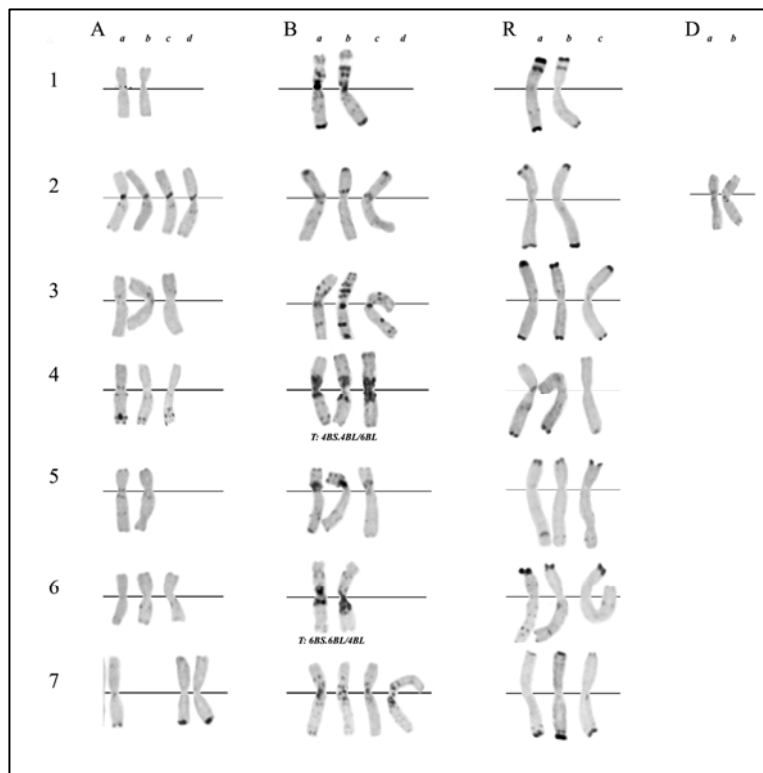


Рис. 3. Кариотип образца Л 8-4: a-d – полиморфные варианты кариотипов по рисунку окрашивания

Дифференциальное окрашивание хромосом сестринских линий **образца Л 8-6**, полученного также от скрещивания с участием 2R/2D-замещенной и полнокомплектной форм, позволило установить наличие разных вариантов хромосомных перестроек, как между, так и внутри самих этих линий (рис. 4). Так, у сестринской линии Л 8-606 отдельные растения вместо целой ржаной хромосомы 5R имели телоцентрики 5RL (рис. 4а, б).

Данная линия характеризуется наличием 2B/2D-замещения. Подобное явление может быть объяснено сменой гомеолога, участвующего в замещении. Такая смена гомеолога (замещения) возможна в результате смены унивалента (Person, 1956). Явление смены унивалента описано в основном для моносомных и нуллисомных растений пшеницы и тритикале (Merker, 1973; Korzun et al., 1997).

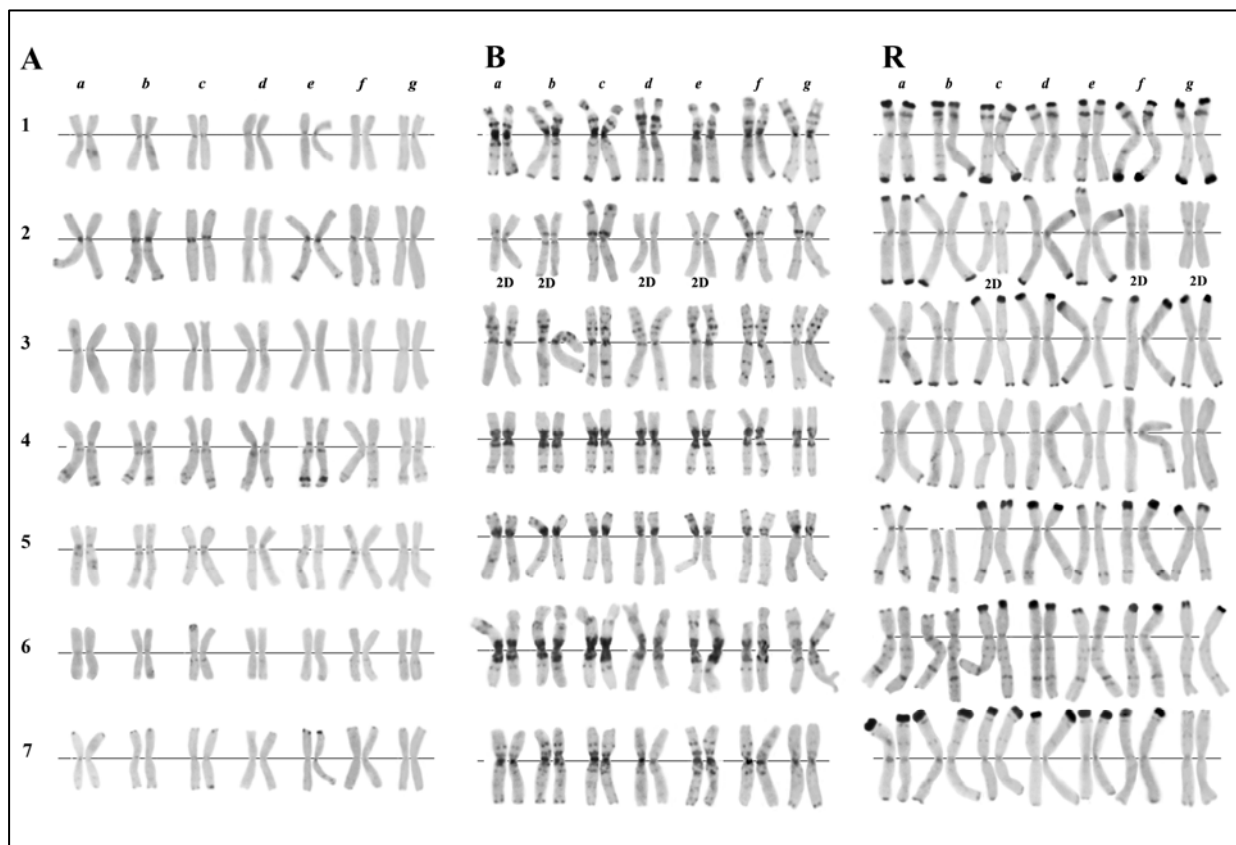


Рис. 4. Кариотип сестринских линий образца Л 8-6: а – 606-1, b – 606-2, с – 616, d – 626, e – 635, f – 650, g – 682

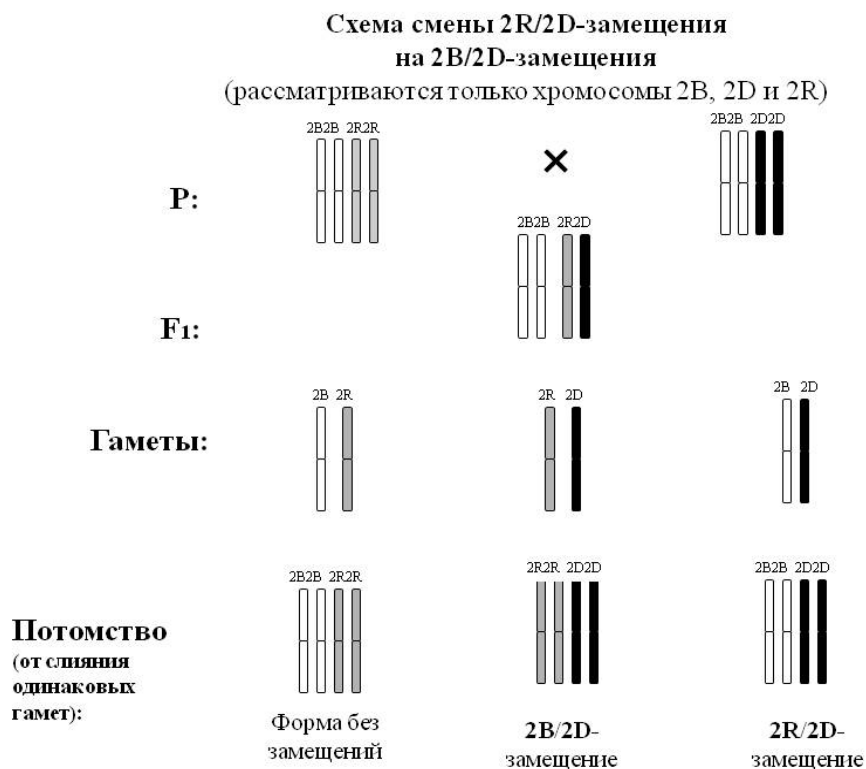


Рис. 5. Схема смены 2R/2D-замещения на 2B/2D-замещение (рассмотрено только наследование хромосом, участвующих в замещениях).

В нашем случае такая смена унивалента могла произойти у гибридов F_1 , имеющих хромосомы 2R и 2D в моносомном состоянии, и у которых могут формироваться гаметы с разными наборами хромосом субгеномов В, R и D. От слияния одинаковых гамет могут получиться генотипы с полными наборами хромосом всех субгеномов, или с замещением 2R/2D либо с 2B/2D-замещением. О такой возможности свидетельствуют и результаты изучения мейоза у таких форм. В то же время подобные гаметы могут формироваться и в поздних поколениях в случае моносомного состояния по какой-либо хромосоме (рис. 5).

В дополнение к смене гомеолога у линии Л 8-606 наблюдается полиморфизм по рисунку дифференциального окрашивания: так у хромосомы 3R отсутствует гетерохроматиновый теломерный блок в коротком плече. Другая сестринская линия Л 8-616 имеет различные гомологи хромосомы 3B (рис. 4с). Один гомолог имеет интеркалярный бэнд в длинном плече, а у другого такой бэнд отсутствует. Этой линии присуще 2R/2D-замещение. Третья сестринская линия Л 8-626 (рис. 4d) аналогично линии Л 8-606 имеет 2B/2D-замещение, т.е. замену гомеолога. У нее менее выражена гетерохроматинизация хромосомы 7B, а у хромосомы 1R отсутствует теломерный блок в длинном плече. У сестринской линии Л 8-635 присутствует также 2B/2D-замещение, и хромосома 1R не имеет теломерного блока в длинном плече (рис. 4е). Линия Л 8-650 имеет 2R/2D-замещение (рис. 4f). Хромосома 3B характеризуется наличием интеркалярного бэнда в длинном плече, аналогичного бэнду гетероморфной пары 3B хромосом у линии Л 8-616, только в этом случае бэнд присутствует на обоих гомологах. Кроме того, в коротком плече хромосомы 1A данной линии выявляется крупный теломерный блок. Линия Л 8-682 имеет 2R/2D-замещение, а хромосомы 4R и особенно 7R отличались по рисунку окрашивания от гомологов других сестринских линий (рис. 4g).

Следует отметить, что в целом у сестринских линий, полученных из образца Л 8-6, встречаются два типа межгеномных замещений хромосом. В дополнение к ним встречаются три типа хромосом 2A, два типа – 4A, три типа – 7B, пять типов – 3B, три типа – 1B, по три типа – 6R- и 7R-хромосом. Данный факт свидетельствует о наличии у этой линии, подобно образцу Л 8-4, широкого формообразовательного процесса, что представляет интерес для селекционной работы.

Изучив кариотип растений поколения F_4 к-1185 × 131/7 удалось установить изменения, происходящие в кариотипах у потомков замещенных и транслоцированных форм. Анализ кариотипов отдельных растений F_4 выявил наличие у них трех вариантов кариотипов (рис. 6).

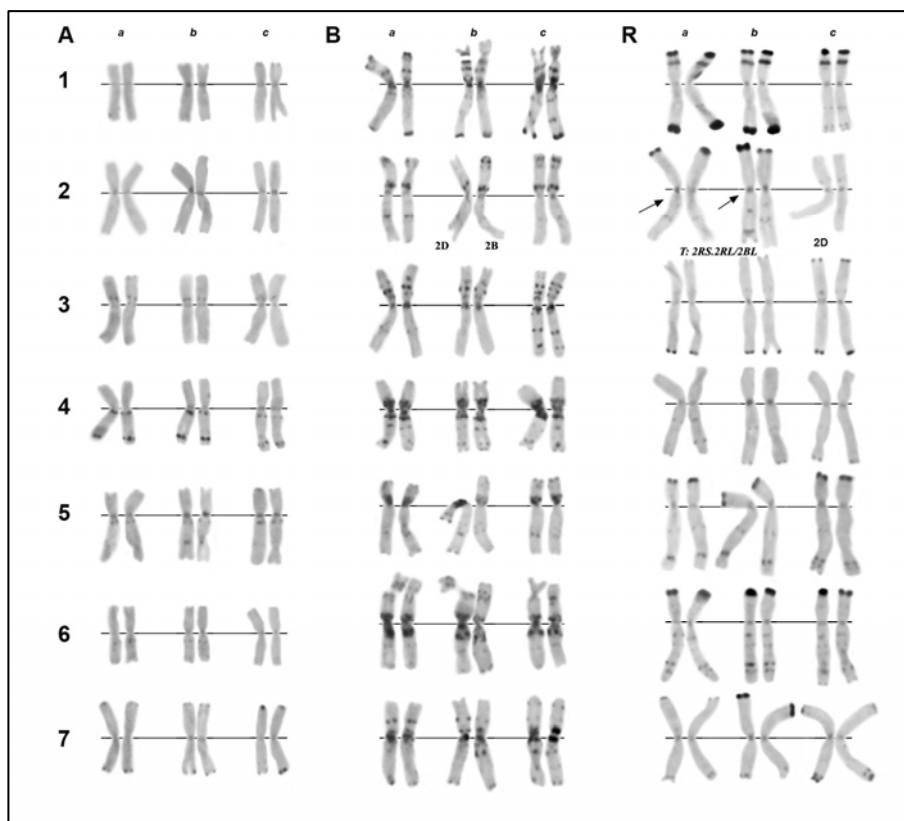


Рис. 6. Варианты кариотипов у гибридов F_4 (a, b, c – первый, второй и третий варианты, соответственно).

Первый вариант (рис. 6a) представляет собой кариотип, состоящий из полных наборов субгеномов А и В, а в субгеноме R ржи присутствует транслокация T:2RS.2RL-2BL. При этом встречаются единичные растения с хромосомой ржи 2R без транслокации. У второго варианта (рис. 6b) субгеном А представлен полным набором хромосом, в субгеноме В наряду с нормальным набором встречается 2B/2D-замещение, т.е. также как и в случае сестринских линий, полученных из образца Л 8-6 наблюдается смена гомеолога. В субгеноме R присутствует транслокация T:2RS.2RL-2BL, причем по этой паре хромосом наблюдается гетерогенность – гомологи заметно различаются длиной плеч и расположением интеркалярных блоков в длинном плече. Кроме того, эти растения обладают гетерогенной хромосомой 7В. Третий вариант кариотипа (рис. 6c) характеризуется полным набором хромосом субгеномов А и В и 2R/2D-замещением хромосом. В целом кариотипы растений поколения F_4 характеризуются высоким полиморфизмом гомологов. Наиболее полиморфны хромосомы 6А, 7А, 3В, и все хромосомы ржаного субгенома – 1R, 3R, 4R, 5R, 6R, 7R.

2. Полиморфизм по спектрам спирторастворимых запасных белков у исследуемых форм яровой тритикале

Успешное использование белковых маркеров и, в частности, спирторастворимых запасных белков – глиадинов, в селекционно-генетических исследованиях и семеноводстве злаковых культур показано многими исследователями (Гордей, 1992; Конарев и др., 2000; Пенева и др., 2007; Драгович, 2008; Поморцев, 2008).

Выявленный полиморфизм по рисунку дифференциального окрашивания хромосом может быть связан с полиморфизмом запасных белков. С целью выявления такого полиморфизма проведен электрофоретический анализ глиадинов. Исследование показало, что изучаемые образцы характеризуются разным количеством биотипов, число которых варьирует от 1 до 8 (табл. 1).

Таблица 1

Результаты электрофоретического анализа образцов

Образец	131/7-235	131/7-263	131/7-197	Арта 59	Лена 1270	Лена 86	Л 8-4	к-1185	Л 8-626	Л 8-635	Л 8-682	Л 8-616	Л 8-650	Л 8-606
Число биотипов	1	1	1	4	4	2	8	4	2	2	3	1	1	1

Наибольшее число биотипов – 8 (рис. 7а), установлено у образца **Л 8-4**, который характеризовался высоким полиморфизмом кариотипов (рис. 3), включая наличие транслокации с участием хромосомы 6В, а также хромосому 2R, в которых локализованы гены, кодирующие спирторастворимые запасные белки. В состав образцов **к-1185**, **Лена 1270** и **Арта 59** входит по 4 биотипа и в целом они характеризуются сравнительно стабильными кариотипами (рис 2А). У образца **Лена 86** выявлено 2 биотипа, один из которых является основным – и составил 99% (рис. 7б). Это вполне объяснимо морфологическими особенностями этого образца – отсутствием воскового налета на всех частях растения, что позволяет проводить более надежную сортовую прочистку, а также более поздним цветением его в сравнении с другими образцами коллекции, что предотвращает биологическое засорение. Сестринские линии характеризовались небольшим числом биотипов. Так, только один образец **Л 8-682** представлен тремя биотипами, образцы **Л 8-626** и **Л 8-635** состоят из 2 биотипов. Все остальные изученные формы – **131/7-235**, **131/7-263**, **131/7-197**, **Л 8-616**, **Л 8-650**, **Л 8-606** – однородны и представлены каждая одним, но различающимися биотипами. Сравнительно высокая однородность сестринских линий объясняется тем, что они получены индивидуальным отбором.

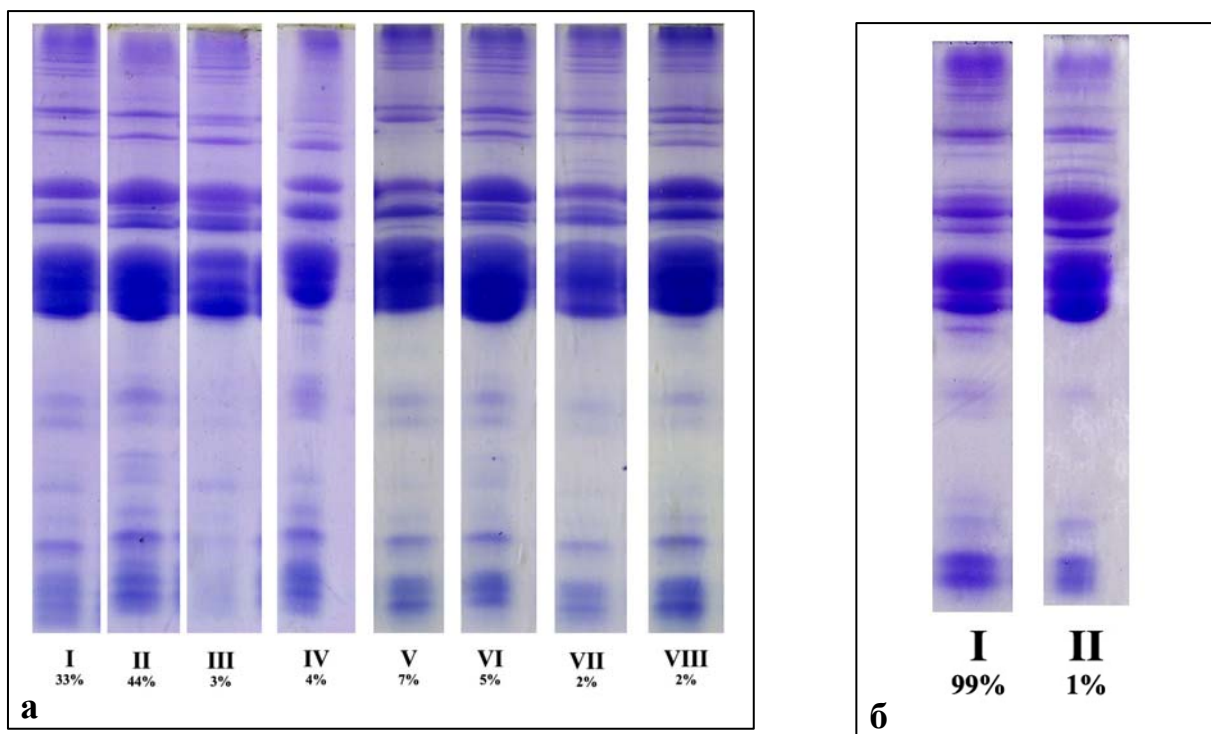


Рис. 7. Варианты биотипов у образцов Л 8-4 (а) и Лена 86 (б).

Небольшое число биотипов говорит об установившейся генетической структуре образца (Кругленья, Петрова, 2006). Наличие у образца нескольких вариантов спектров запасных белков может свидетельствовать о нестабильности кариотипа, причиной которого могут быть как нарушения при прохождении мейоза, так и наличие перекрестного опыления или сортовой примеси. Индивидуальный отбор у тритикале в целом позволяет получать однородные линии как в случае с образцами 131/7-235, 263, 197 и Л 8-616, Л 8-650, Л 8-606. В то же время несовпадение уровней полиморфизма по рисунку дифференциального окрашивания и числа спектров запасных белков может быть связано с участием в кодировании глиадинов только генами 1 и 6 гомеологичных групп хромосом.

3. Продолжительность периода вегетации и продуктивность растений родительских форм

Яровые формы тритикале в условиях Московского региона, как правило, позднеспелы (Медведев, 2007). Сокращение периода вегетации – одна из главных задач в селекции яровой тритикале. Изучение продолжительности периода вегетации изучаемых образцов позволило выделить скороспелые и позднеспелые формы.

По результатам трехлетних наблюдений **продолжительность периода вегетации** у всех родительских образцов за исключением образца Лена 86 не превышала 100 дней (табл. 2). Образец к-1185, имеющий 2R/2D-замещение, и

образец Л 8-4, включающий как полнокомплектные растения, так и растения с 2R/2D-замещением, оказались более скороспелыми по сравнению с полнокомплектными образцами, продолжительность вегетации у данных образцов за три года наблюдения находилась в пределах 86 – 93 дня. Образец 131/7, имеющий 2B/2D-замещение и транслокацию, оказался более позднеспелым (87 – 94 дня), чем формы с 2R/2D-замещением. Период вегетации полнокомплектных образцов Арта 59 и Лена 1270 составил 87 – 100 дней, а образец Лена 86 с полным набором хромосом всех субгеномов оказался самым позднеспелым из изученных, продолжительность его вегетационного периода составила 93 – 109 дней. Таким образом, изученные формы, имеющие 2R/2D-замещение, во все 3 года изучения показали достоверно менее продолжительный период вегетации. По другим изученным вариантам кариотипов не выявлено определенных закономерностей.

Таблица 2

Продолжительность периода вегетации родительских форм

Образцы	Продолжительность, дней		
	2006	2007	2008
к-1185	92.8ab	85.9a	92.3a
Л 8-4	92.1a	85.9a	92.7ab
Арта59	94.5b	87.3bc	94.5c
Лена1270	94.5b	87.8c	100.5d
131/7	92.8ab	86.9abc	94.3bc
Лена86	99.4c	93.3d	109e

Примечание: варианты с одинаковыми латинскими буквами различаются незначимо по критерию Дункана.

Урожайность – важнейший показатель, по которому проводится оценка сортообразцов. Она складывается из отдельных **элементов продуктивности растения**, включая длину колоса, число колосков в колосе, число зерен в колосе, масса зерна с колоса и т.д. Показано, что у тритикале в формировании урожая с делянки больший вклад, чем у пшеницы, вносят длина колоса и число зерен в колоске (Соколенко, Леонова, 2007; Медведев, 2007). Поскольку эти показатели имеют первоочередное значение для формирования урожая, их можно использовать в качестве маркеров в селекционной практике и проводить на их основе отбор высокопродуктивных образцов.

Анализ признаков продуктивности показал наличие широкой изменчивости по ряду хозяйственно важных показателей у изученных форм яровой тритикале (табл. 3). Значительные отличия между образцами наблюдаются по признаку **высота растения**. Так, полнокомплектные формы Лена 1270 и Арта 59 являются самыми высокорослыми (144,2 и 136,9 см соответственно). Самым низкорослым является образец к-1185, имеющий в

своем кариотипе 2R/2D-замещение. Его высота составила 85 см, что соответствует литературным данным о более низкой высоте растений с 2R/2D-замещением (Соловьев, Вишнякова, 1997; Соловьев, 2000; Куркиев, 2008).

Таблица 3

Характеристика признаков продуктивности образцов яровой тритикале

Образец	Признак					
	Высота, см	Масса 1000 зер., г	Длина колоса, см	Число колосков, шт.	Число зерен с г.к.*	Масса зерна с г.к.*, г
Лена1270	144,23 <i>d</i>	52,13 <i>cd</i>	11,14 <i>cd</i>	26,90 <i>de</i>	53,23 <i>bc</i>	2,78 <i>bc</i>
Арта59	136,89 <i>cd</i>	56,35 <i>d</i>	11,68 <i>d</i>	27,21 <i>e</i>	55,02 <i>c</i>	3,1 <i>c</i>
к-1185	85,05 <i>a</i>	38,53 <i>a</i>	7,46 <i>a</i>	16,06 <i>a</i>	29,36 <i>a</i>	1,24 <i>a</i>
131/7	91,15 <i>ab</i>	41,73 <i>ab</i>	8,68 <i>ab</i>	18,25 <i>ab</i>	37,48 <i>a</i>	1,57 <i>a</i>
Лена86	97,29 <i>b</i>	42,52 <i>ab</i>	9,25 <i>b</i>	22,23 <i>c</i>	35,72 <i>a</i>	1,54 <i>a</i>
Л 8-4	98,18 <i>b</i>	46,15 <i>bc</i>	8,34 <i>ab</i>	20,40 <i>bc</i>	38,56 <i>a</i>	1,8 <i>a</i>

Примечание: варианты с одинаковыми латинскими буквами различаются незначимо по критерию Дункана; г.к.* – главный колос.

Остальные образцы имеют высоту более 90 см. Образцы Лена 1270 и Арта 59 оказались наиболее продуктивными: они превосходили остальные образцы по длине колоса, числу колосков и зерен в колосе. Соответственно, и масса зерна с колоса у этих форм была наибольшей. Образец к-1185 оказался наименее продуктивным из всех изученных. Линия 131/7, имеющая в своем кариотипе 2B/2D-замещение и транслокацию T:2RS.2RL-2BL, обладает средней высотой (91,2 см) и показателями продуктивности колоса. Таким образом, по высоте растения, а также признакам продуктивности растений не выявлено четких связей между составом хромосом и проявлениям какого-либо из признаков.

4. Характеристика проявления признаков у гибридов F₁ и F₂

Изучение продолжительности периода вегетации в отдельных гибридных комбинациях не выявило форм, у которых она превышала бы 100 дней. Растения гибридной F₁ комбинации Лена 1270 × Лена 86 оказались более скороспелыми, чем родительские линии – 88,2 дня в среднем по годам. А гибриды F₁ Лена 1270 × к-1185 наоборот, более позднеспелыми, чем оба родителя (96 дней). Период вегетации F₁ Лена 1270 × Л 8-4 составил 90,7 дней, как у исходной формы Л 8-4 (90 дней). Продолжительность периода вегетации гибрида F₁ Лена 1270 × Арта 59 оказалась промежуточной между родительскими линиями – 92,2 дня (Лена 1270 – 93 дня, Арта 59 – 91 день). В комбинациях F₁ с участием замещенной формы к-1185 – к-1185 × Арта 59 и к-

1185 × Лена 1270 период вегетации увеличился и составил 97 и 95 дней, а в комбинациях скрещиваний к-1185 × 131/7 и к-1185 × Л 8-4 период вегетации практически не изменился в сравнении с родителями - 92,5 и 89,9 дней соответственно. Продолжительность периода вегетации гибридов F₁ от скрещивания линии 131/7 с другими формами колебалась незначительно и составила в среднем 91,0 – 92,5 дней. При скрещивании самого позднеспелого из изученных образца Лена 86 с формами Арта 59 и Л 8-4 период вегетации у гибридов F₁ составил 91,5 дня, при этом у гибридов с участием скороспелого образца к-1185 он составил 96 день. В общем можно сказать, что при скрещивании полнокомплектных среднеспелых форм со скороспелыми замещенными образцами она увеличивается, несмотря на то, что продолжительность периода вегетации в сильной степени зависит от метеоусловий года.

Анализ высоты растения и признаков продуктивности у гибридов F₁ выявил явление гетерозиса по ряду признаков (табл. 4). Проявление гетерозиса было сходным по годам изучения. Наибольшие значения гетерозиса были отмечены по высоте растения по всем комбинациям скрещиваний.

Таблица 4

Значения истинного гетерозиса у гибридов F₁ гексаплоидной тритикале, 2008 г. (%)

Гибридные комбинации	Высота растений	Длина главного колоса	Число зерен с главного колоса	Масса зерна с главного колоса
131/7 × к-1185	12,6	-3,4	-10,7	-6,2
к-1185 × 131/7	59,9	10,3	-7,5	-6,2
131/7 × Лена1270	43,0	-1,8	-20,9	-28,6
131/7 × Арта59	42,3	-6,0	-17,1	-25,8
Лена1270 × Л 8-4	39,5	15,3	-22,4	-25,0
Лена1270 × Лена86	35,2	-10,8	-14,5	-28,6
Лена86 × Л 8-4	11,5	11,9	17,3	11,1
Лена86 × Арта59	39,6	-5,1	-10,9	-22,6
к-1185 × Арта59	16,4	-12,0	-48,7	-51,6
к-1185 × Л 8-4	22,0	-1,2	-18,1	-33,3
Л 8-4 × к-1185	18,9	3,6	-1,7	-27,8

Примечание: варианты с одинаковыми латинскими буквами различаются незначимо по критерию Дункана.

Наивысшее значение истинного гетерозиса – 59,9% по высоте растения было отмечено у гибридов F₁ в комбинации скрещивания линии к-1185 с образцом 131/7. Из показателей продуктивности растения – по числу зерен и

массе зерна с главного колоса положительный гетерозис был выявлен только в одной комбинации скрещивания линия Лена 86 × Л 8-4.

Дисперсионный анализ признаков продуктивности показал, что гибриды F₁ с участием линий Лена 1270 и Арта 59 имеют существенно выше значения показателей высоты растения, длины колоса, а также, как правило, числа колосков в колосе.

Таблица 5

Анализ структуры урожая гибридов F₁

Форма / комбинация	Высота растения, см	Длина г. к. *, см	Число колосков, шт.	Масса зерна с г.к. *, г
131/7	91,15ab	8,68ab	17,92ab	1,57abc
131/7 × к-1185	95,77bc	8,37ab	19,07abc	1,48abc
131/7 × Лена 1270	130,30ghijkl	10,99cdefgh	23,85ghij	2,02abcd
131/7 × Арта 59	129,65efghijk	11,00defgh	24,26hij	2,35bcde
Лена 1270	144,23k	11,14fgh	26,90ij	2,78de
Лена1270 × Л 8-4	137,00jk	12,78h	23,83fghij	2,13abcde
Лена1270 × Лена86	131,57ghijk	9,89bcdefg	24,39hij	2,05abcd
Лена86	97,29bc	9,25abcdef	22,23cdefgh	1,54abc
Лена86 × Л 8-4	108,53c	10,34bcdefg	23,40efghi	2,04abcd
Лена86 × Арта 59	135,80hijk	11,12efgh	25,47hij	2,45cde
к-1185	77,65a	7,46a	16,06a	1,24a
к-1185 × Л 8-4	94,76bc	8,2abcdefg	17,57ab	1,25a
к-1185 × 131/7	89,83ab	9,58abcdefg	18,67ab	1,50abc
к-1185 × Арта 59	124,06defghij	10,31bcdefg	23,25defgh	1,46abc
Л 8-4	98,18bc	8,34ab	20,40bcdef	1,80abcd
Л 8-4 × к-1185	92,33ab	8,58ab	17,00ab	1,29ab
Арта59	136,89ijk	11,68gh	27,21j	3,10e

Примечание: варианты с одинаковыми латинскими буквами различаются незначимо по критерию Дункана; г.к.* – главный колос.

Анализ структуры урожая гибридов F₂ выявил значительную изменчивость по изучаемым признакам. Так высота растений варьировала от 80,7 см в комбинации скрещивания Лена 86×Л 8-4 до 136 см в комбинации Лена 1270 × Арта 59, длина колоса от 7,8 см у растений комбинации к-1185 × Л 8-4 до 11,3 см у растений комбинации Лена 1270 × Арта 59. То же наблюдается и по остальным показателям. Число колосков в главном колосе изменялось от 16,5 шт. в комбинации к-1185×Л 8-4 до 26,7 шт. в комбинации Лена 1270 × Арта 59, число зерен с главного колоса от 31 шт. в комбинации Лена 86 × Л 8-4 до 48,4 шт. в комбинации Лена 1270×Арта 59. Масса зерна с

главного колоса варьировала в пределах от 1,3 г в комбинации скрещивания к-1185 × Л 8-4 до 2,5 г в комбинации Лена 1270 × Арта 59, масса 1000 зерен от 40,3 г в комбинации к-1185 × Л 8-4 до 51,5 г в комбинации Лена 1270 × Арта 59, озерненность главного колоса от 1,7 в комбинации Арта 59 × Л 8-4 до 2,0 в комбинациях к-1185 × Л 8-4 и Лена 1270 × Л 8-4. При этом наилучшие значения изучаемых показателей были отмечены в тех гибридных комбинациях F₂, в которых родительские формы имели лучшие показатели.

ВЫВОДЫ

1. Методом дифференциального окрашивания установлены кариотипы у форм яровой тритикале. Образцы Арта 59, Лена 1270 имеют полнокомплектный набор хромосом и несут перичентрическую инверсию в хромосоме 4В. Образец Лена 86 имеет полнокомплектный кариотип без хромосомных перестроек. Образцы 131/7-235, 131/7-263, 131/7-197 имеют 2В/2D-замещение и транслокацию Т:2RS.2RL-2BL. У образца Л8-4 имеет расщепление по 2R/2D-замещению. У линий Л8-606, Л8-635, Л8-626 имеется 2В/2D-замещение, а линии Л8-682, Л8-650, Л8-616 несут 2R/2D-замещение.
2. Наибольший полиморфизм по рисунку дифференциального окрашивания выявлен у сестринских линий образца 131/7 по хромосомам 2А, 4А, 5А, 6А, 7А, 1В, 3В, 7В, 3R, 4R и 2D, у образца Л8-4 по хромосомам 2А, 4А, 2В, 3В, 5В, 2D, 2R и 6R, у образца Л8-6 по хромосомам 2А, 4А, 1В, 3В, 7В, 6R и 7R.
3. Для яровой тритикале выявлена смена замещения 2R/2D на 2В/2D-замещения у потомков в поздних поколениях.
4. Механизм смены 2R/2D-замещения на 2В/2D-замещение может быть основан на смене унивалента в мейозе у гибридов F₁ при образовании дополнительных унивалентов по группе гомеологичных хромосом.
5. В поколении F₄ от скрещивания тритикале с участием формы 131/7, несущей межгеномные транслокацию и 2В/2D-замещение, показана гетерогенность по рисунку дифференциального окрашивания между гомологами по хромосомам 6А, 7А, 3В, и всем хромосомам ржаного субгенома.
6. Выявлен полиморфизм по спектрам спирторастворимых запасных белков у яровой тритикале. Отсутствие прямой связи между полиморфизмом по рисунку дифференциального окрашивания и числом спектров глиадинов обусловлено малым числом хромосом, их кодирующих.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. **Шишкина А.А.**, Бадаева Е.Д., Соловьёв А.А. Особенности организации кариотипов некоторых форм яровой тритикале. // Известия ТСХА, 2009 №2, с. 123-130.
2. **Шишкина А.А.**, Бадаева Е.Д., Соловьёв А.А. Кариологические особенности некоторых форм яровой тритикале (Peculiarity of organization of cariotypes certain spring triticales forms). // Izvestia of Timiryazev Academy, special issue. – М., 2009. – Р. 126-133. (на английском языке)
3. **Шишкина А.А.**, Климушина М.В., Голубцов С.В. Исследование полиморфизма сортообразцов и сортов тритикале по запасным белкам. // «Научное наследие Н.И. Вавилова – фундамент развития отечественного и мирового сельского хозяйства» – Материалы международной конференции, г. Москва, 27-28 ноября 2007 г. – М., 2007. – С. 133-134.
4. **Шишкина А.А.**, Дедкова О.С. Исследование хромосомного состава некоторых форм яровой тритикале. // «Генетика и селекция растений, основанная на современных генетических знаниях и технологиях» - Тезисы докладов и стендовых сообщений Международной научной школы – конференции молодых ученых, г. Звенигород, 7-12 декабря 2008 г. – Звенигород, 2008. – С. 78.
5. **Шишкина А.А.** Исследование полиморфизма кариотипов у формы Л 8-4 яровой тритикале гибридного происхождения. // Тезисы докладов V съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященного 200-летию со дня рождения Чарльза Дарвина, часть I, г. Москва, 21-28 июня 2009 г. – М., 2009. – С. 368.
6. Соловьёв А.А., Дивашук М.Г., **Шишкина А.А.** Хромосомные и геномные мутации в селекции тритикале. // «Экспериментальный мутагенез в биологии и сельском хозяйстве» – Материалы II Международной научно-практической конференции, г. Киров, 2-3 июля 2009 г. – Киров, 2009. – С. 110-112.
7. **Шишкина А.А.** Цитогенетическое изучение некоторых линий ярового тритикале – Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 170-летию УО БГСХА. – Горки, 2009, с. 244-247.
8. **Шишкина А.А.** Особенности кариотипов шести линий яровой гескаплоидной тритикале. – Материалы международной научной конференции молодых ученых и специалистов РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева «Вклад молодых ученых в развитие инноваций аграрной науки». – М.: 2009.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» ГК №02.740.11.0286