

**Федеральное государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева**

---

**Студенческое научное общество имени Н.И. Вавилова**

**60 СТУДЕНЧЕСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ,  
ПОСВЯЩЕННАЯ 120-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ  
Н.И. ВАВИЛОВА**



**им. Н.И. Вавилова**

**Секция «ГЕНЕТИКА, СЕЛЕКЦИЯ И  
БИОТЕХНОЛОГИЯ»**

**14 марта 2007 г.**

**Сборник тезисов**

**Москва, 2007**



УДК 575:573.6:631.524

**Сборник тезисов участников 60 студенческой научной конференции секции «Генетика, селекция и биотехнология», состоявшейся 14 марта 2007 г. – М.: РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2007. 68 с.**

**Руководители секции:** доц. В.С. Рубец, проф. В.В. Пыльнев, акад. В.С. Шевелуха, доц. А.А. Соловьев, студ. Н.К. Майер

**Выпуск подготовили:** проф. В.В. Пыльнев, доц. А.А. Соловьев, асс. А.Н. Князев, студ. Д.Н. Лапин

В сборнике научных трудов представлены материалы 60 студенческой научной конференции секции «Генетика, селекция, биотехнология», посвященной 120-летию со дня рождения академика Н.И. Вавилова.

**ФГОУ ВПО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева**

## **Н.И. ВАВИЛОВ В ПЕТРОВКЕ (1906-1917)**

**П.Ю. Крупин**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научные руководители – **А.А. Соловьев**, к. б. н., доцент;  
**Т.Б. Авруцкая** (кабинет-музей ИОГен РАН)

В Московской практической академии коммерческих наук, этого лучшего в стране, как тогда считали, заведения для будущих коммерсантов, одним из которых должен был стать молодой Николай Вавилов, особое внимание наряду с бухучётом и товароведением уделялось химии, естествознанию и физике. «Как помнятся те уроки естествознания, к[отор]ыя учителя просто сумели рассказать», - вспоминал позже Вавилов. В последний год своего ученичества (1905-1906) Вавилов сразу же с последним звонком выбежал и мчался в Политехнический музей, где перед широкой публикой выступали многие видные ученые: микробиолог и физиолог растений Н.Н. Худяков, химик А.Н.Реформатский, физик и астроном Н.А. Морозов, зоолог Н.М.Кулагин. Горячая агитация ботаника С.Ф. Нагибина и технолога Я.Я. Никитинского за Петровскую академию (тогда – Московский сельскохозяйственный институт (МСХИ)), определила выбор Н.Вавилова, всё еще колебавшегося, куда идти: «Медицина, естествознание, агрономия – к ним влекло больше всего».

Преподавательский коллектив МСХИ был уникален по своему составу: на момент поступления Вавилова в институт (1906) большинство профессоров были необычно для того времени молоды (немного старше 40 лет), студенты и преподаватели составляли одну большую дружную семью. От профессоров не требовалось натаскивания студентов, только лишь знания на уровне мировой науки. Определенная демократичность, завоеванная революцией 1905 г. и отличавшая это учреждение, проявлялась в активной деятельности студенческих организаций. Недаром в одно время вместе с Вавиловым МСХИ окончили такие известные учёные, как экономист А.В. Чайнов и ирригатор Д.Д. Букинич, а А.Ф. Фортунатов называл те годы «лучшим периодом в жизни Петровско-Разумовской школы».

На первом курсе Вавилова больше увлекала «философия бытия». Обучаясь по предметной системе, он так определил свой выбор: «Нужно пополнять знания по естественным наукам, по

агрономическим, общественным... Все что только есть общего в академии, надо пройти и закрепить». Н.Я. Демьянов посвящает его в тайны органической химии, а А.Ф. Фортунатов – экономики и статистики, на лекциях В.Р.Вильямса он познаёт законы образования и обработки почв, мир руд и минералов открывает ему Я.В. Самойлов, лесному делу обучает Н.С. Нестеров. Любимыми учителями Вавилова были Н.Н. Худяков, читавший физиологию растений ещё на первом курсе, и Д.Н. Прянишников, заведующий кафедрой агрохимии и частного земледелия. Вавилов занимается на разных кафедрах, в различных лабораториях, берясь охотно за темы, далёкие одна от другой (агрохимия, микробиология, фитопатология, энтомология). Уже в первый год Вавилов активно включается в Кружок любителей естествознания, где был избран товарищем председателя; организует ботаническую экспедицию на Кавказ (1908); делает доклады. Несмотря на блестящие результаты любого своего начинания Вавилов критичен и даже жёсток по отношению к себе: «Работать надо умнее. Нельзя разбрасываться». К 1910 г. Вавилов определяется с выбором своей научной ниши. Труды по защите растений (работа под руководством профессора Н.М. Кулагина «Голые слизни (улитки), повреждающие поля и огороды в Московской губернии», зачтенная Вавилову в качестве дипломной и удостоенная премии А.П. Богданова (1910); коллекция видов паразитирующих грибов, собранная на Кавказе в 1908 г., премированная Большой серебряной медалью (1910)) – всё больше заставляют Вавилова задуматься о природе иммунитета, а знакомство с организатором первой в России научной селекционной станции Д.Л. Рудзинским во многом предопределяет дальнейший путь: «24<sup>й</sup> год ... будет поворотом к опытной агрономии, в частности к селекции ... пойду вперед, пойду в селекцию...». В год выпуска из МСХИ (1911) Вавилов пишет: «В инстит[уте] в милой Петровке произошла полная реформация... Хочется только одного подготовить себя хоть немного к самостоятельной исследовательской работе».

Н.И. Вавилов был оставлен при кафедре частного земледелия «для подготовки к профессорской деятельности». Работа началась под руководством Д.Л. Рудзинского на селекционной станции, имевшей к тому времени связи со многими научными учреждениями и крупными учёными Западной Европы. Уже в том же году молодой учёный высевает коллекцию пшениц и овсов, испытывая их на устойчивость к грибным заболеваниям, чтобы познать природу их устойчивости, а желание применить

гибридологический метод заставило Вавилова постичь законы генетики. Результаты этой работы, опубликованные в 1913 г., указывают на наличие невосприимчивого к мучнистой росе образца пшеницы № 173, полученного из Германии ещё в 1902 г., той самой загадочной «персиянки», в поисках которой Вавилов пропутешествовал пол-Азии. Исследовательская работа на станции сопровождалась научными дискуссиями и докладами сотрудников станции (С.И. Жегалов, А.Г. Лорх, Л.И. Говоров, К.М. Чинго-Чингас и др.) – знаменитыми «четвергами». В период скрещиваний Вавилов появлялся в поле уже в 3-4 часа утра, часто оставался на ночь. Такой напряженный ритм прерывался лишь зарубежными поездками (научные центры Европы в 1913-1914 гг.; 1916 г. – Средняя Азия) и даже в тяжёлые военные годы опыты не останавливались. В 1914 г. он защищает магистерскую диссертацию «История цветка в растительном царстве».

Осенью 1917 г. Н.И. Вавилова избирают профессором Саратовского университета, после чего он покидает свою *Alma Mater* навсегда. Однако Петровка, закалившая и выковавшая настоящего учёного, позволила ему отдать все силы своей стране, своему народу.

### **НАСЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К СОСУДИСТОМУ БАКТЕРИОЗУ ПРИ ПЕРЕДАЧЕ ОТ АБИССИНСКОЙ КАПУСТЫ (*BRASSICA CARINATA*) В ПЕКИНСКУЮ (*BRASSICA PEKINENSIS*)**

**А.С. Аксенова**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научный руководитель – **С.Г. Монахос**, к.с.-х.н., ассистент

В первой половине года мы испытываем дефицит свежих овощей. Одним из решений данной проблемы является выращивание пекинской капусты (*B. pekinensis*). Это раннеспелая, холодостойкая, высокопродуктивная культура, отличающаяся высоким содержанием ценных питательных веществ. Но, к сожалению, как и большинство представителей семейства Brassicaceae она восприимчива к сосудистому бактериозу. Данное заболевание вызывается бактериями *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Dows. Возбудитель представлен несколькими физиологическими расами (6 рас по S. Kamoun (1992) в

модификации А.Игнатова). В России наиболее распространены три из них: 0, 3 и 4. В результате развития сосудистого бактериоза происходит значительное снижение урожая, ухудшение качества кочанов, повышается восприимчивость к слизистому бактериозу.

В условиях интенсивного возделывания сельскохозяйственных культур наиболее рациональным методом защиты растений от поражения фитопатогенном является селекция.

На селекционной станции им. Н.Н.Тимофеева была проведена отдаленная гибридизация *B. pekinensis* (AA,  $2n=20$ ) с *B. carinata* (BBCC,  $2n=34$ ), донором гена устойчивости (Rb) к 1, 3, 4, 5 расам фитопатогена, с целью переноса гена устойчивости к сосудистому бактериозу пекинской капусте. Доминантный характер наследования Rb гена (все полученные от межвидового скрещивания амфигаплоиды (ABC) были устойчивы к 1, 3, 4, 5 расам патогена) позволил в дальнейшем проводить отбор устойчивых форм. В беккроссных популяциях до 5-го поколения наблюдалось расщепление 1R:1S (R – устойчивые, S – восприимчивые), однако, расщепление в потомствах от самоопыления ( $F_2$ ) не соответствовало менделевскому 3R:1S. Что объяснимо нарушениями в мейотическом делении.

Цитологический анализ некоторых растений 5-го беккроссного поколения, проведенный методом распластывания клеток, показал, что у этих растений число хромосом:  $2n = 20$ , а в  $n=10$ . Ярко выраженных нарушений в ходе мейоза не обнаружено. Таким образом, в результате пяти последовательных беккроссирований получены формы со стабильным мейотическим делением. Это подтверждается расщеплением в потомстве от самоопыления устойчивых растений, которое соответствует 3R:1S. Полученные устойчивые к *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* формы пекинской капусты можно использовать для создания инбредных линий и  $F_1$  гибридов.

## ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ В ХЛОРОПЛАСТНЫХ ОПЕРОНАХ

**А.Ю. Алейникова**

Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева РАН  
Научные руководители – **Я.О. Зубо**, к.б.н., научный сотрудник,  
**В.В. Кузнецов**, д.б.н., зав. лаборатории

Часто гены, кодирующие белки одного метаболического пути или определяющие близкородственные функции, регулируются согласованно. Экспрессия таких генов начинается и заканчивается или согласованно продолжается в ответ на один и тот же регуляторный сигнал. Гены, объединенные в опероны, транскрибируются с промотора, находящегося на 5'-конце такой группы генов, в виде единственной молекулы РНК, которая в дальнейшем подвергается процессу «созревания».

Часть генов в хлоропластном геноме входит в состав оперонов. Это свойство они унаследовали от своих предшественников – сине-зеленых водорослей. Хлоропласты имеют также прокариотического типа трансляционную систему и характерные для бактерий регуляторные транскрипционные элементы. Однако в процессе эволюции хлоропласты приобрели и некоторые эукариотические признаки - наличие интронов в генах, процесс редактирования РНК и др.

Считывание РНК с хлоропластных генов происходит, по крайней мере, двумя разными РНК-полимеразами – бактериального и фагового типов. Это является одной из причин того, что многие опероны имеют несколько промоторов. Для ряда оперонов показано наличие внутренних промоторов, с помощью которых РНК считывается только с части генов оперона.

С помощью метода run on транскрипции была изучена интенсивность транскрипции нескольких оперонов пластома ячменя. Основой транскрипционной системы служили лизированные хлоропласты, которые были выделены из первых листьев ячменя разного возраста (4-х, 9-ти и 18-ти дневные). В ходе реакции транскрипции (длительность 10 мин) во вновь синтезированные молекулы РНК включался радиоактивно-меченный УТФ ( $\alpha^{32}\text{P}$ -УТФ), что позволяло в дальнейшем детектировать только вновь синтезированные транскрипты. Ограниченное время реакции практически исключает влияние процессов деградации РНК на количество синтезированных транскриптов.

Установлено, что у большинства изученных оперонов гены транскрибируются с различной интенсивностью. Наиболее равномерная транскрипция наблюдалась для *pro*-оперона, содержащего *rpoB-rpoC1-rpoC2* гены. Необходимо отметить, что это, вероятно, единственный оперон пластома ячменя, состоящий только из генов, кодирующих субъединицы одного белкового комплекса (субъединицы РНК-полимеразы бактериального типа). Другие опероны, также несущие большинство генов одной функциональной группы, характеризовались различиями в интенсивности транскрипции генов. Так, у оперона *rps2-atpI-atpH-atpF-atpA* считывание РНК значительно повышалось (в 7-10 раз) для *atpF* гена по сравнению с предыдущими и последующим геном. Транскрипция гена *psaB* в опероне *psaA-psaB-rps14* так же была интенсивнее как минимум вдвое, чем транскрипция первого и последнего генов оперона.

Отмечены и значительные изменения в оперонах, содержащих гены, кодирующие компоненты различных функциональных групп хлоропластов. Так оперон *atpB-atpE-trnV-ndhC-ndhK-ndhJ* характеризуется значительно большей интенсивностью транскрипции генов *atpB* и *trnV*, в сравнении с другими генами (превышение в среднем не менее чем в 3 раза). Таким образом, в данном опероне мы имеем значительно различающиеся показатели интенсивности транскрипции для генов одной группы (*atp*-гены), изменение транскрипции при чередовании генов различных групп (*atpE-trnV* и *trnV-ndhC*) и одинаковые показатели транскрипции для всех *ndh*-генов. Ситуация, когда при чередовании генов различных групп изменяются и показатели интенсивности транскрипции, наблюдается и для оперона *rrn16-trnI-trnA-rrn23-rrn4,5-rrn5*. В этом опероне интенсивность транскрипции снижается вдвое сразу после первого гена, то есть при чередовании генов рибосомальной и транспортных РНК.

Таким образом для нескольких оперонов обнаружен эффект значительного различия интенсивности транскрипции индивидуальных генов, что может быть связано с наличием внутриоперонных промоторов. Дальнейшая работа будет направлена на идентификацию таких промоторов и на изучение особенностей регуляции транскрипции генов, находящихся под их контролем.

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
МОНОСОМНО ДОПОЛНЕННЫХ ЛИНИЙ ТОМАТА С  
РАЗЛИЧНЫМИ ХРОМОСОМАМИ  
*SOLANUM LYCOPERSICOIDES***

**О.С. Александров**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научные руководители – **А.А. Соловьев**, к. б. н., доцент;

**А.Н. Князев**, ассистент

В селекции культурного томата часто используют отдалённую гибридизацию с дикими видами, которые являются донорами устойчивости к болезням и неблагоприятным абиотическим факторам. Одним из таких доноров выступает *Solanum lycopersicoides*. Однако гибриды F<sub>1</sub> культурного томата с этим видом стерильны, что препятствует осуществлению беккроссов и интрогрессии генов полезных свойств. Использование дополненных форм с хромосомами *S. lycopersicoides* может стать одним из путей решения этой проблемы (Chetelat, 2000; Гавриленко, 1999).

Материал для исследования – расщепляющиеся популяции моносомно дополненных линий с разными хромосомами *S. lycopersicoides* – любезно предоставлен R. Chetelat (США). Выделение дополненных растений осуществляли косвенными (пониженная фертильность пыльцы, морфологические особенности, использование молекулярных маркеров) и прямыми (подсчёт числа хромосом) методами.

Цитологический анализ показал, что дополненным формам свойственны множественные нарушения на различных стадиях мейотического деления. В метафазе I наблюдали отдельно лежащие хромосомы. Причиной данной аномалии является преждевременное расхождение гомеологов вследствие неполной конъюгации или ее отсутствия. Частота встречаемости отдельно лежащих хромосом у моносомно дополненных линий с хромосомой II *S. lycopersicoides* (МДЛ- II) составила 64,80%, у МДЛ-V – 8,82%, у МДЛ-XI – 15,38%. В анафазе I нарушения выражались в отставании отдельных хромосом при расхождении к полюсам или в образовании мостов. У МДЛ-II частота материнских клеток пыльцы (МКП) с отставаниями хромосом составила 40,65% – 77,98% в зависимости от образца. Мосты встречались гораздо реже – в 0,75% МКП. Эти нарушения, равно

как и нарушения в метафазе I, возможно вызваны взаимодействием генов культурного томата и *S. lycopersicoides*. Подобные причинно-следственные связи были установлены на неполных пшенично-пырейных амфидиплоидах (Голубовская, 1977).

Сходные аномалии обнаружены и во втором делении мейоза. Отдельно лежащие хромосомы в метафазе II наблюдали у МДЛ-II в 15,00% – 41,03%, а у МДЛ-V – в 16,19%. Отставания хромосом в анафазе II у МДЛ-II встречались в 18,30% МКП. Мостов на этой стадии ни у одной из МДЛ обнаружено не было.

Последствия выше описанных аномалий наглядно можно наблюдать при изучении стадии микроспор и пыльцы. При нормальном прохождении мейоза формируются тетрады микроспор, которые при отсутствии неблагоприятных факторов дают фертильную пыльцу. У МДЛ II же наблюдали образование диад (с частотой 61,59%), триад (13,78%), пентад (5,80%), гексад (2,17%) и гептад (0,72%). Только лишь в 15,94% клеток встречались тетрады. Появление диад, триад и полиад наблюдается у многих растений и связано с нарушением функций веретена деления (Иванова, 2006). Образование диад, триад и полиад у дополненных растений приводит к резкому снижению фертильности пыльцы, которая практически совпадала с частотой формирования тетрад.

Полученные данные свидетельствуют о возможности использования дополненных форм для передачи полезных признаков (прежде всего холодостойкости) от *S. lycopersicoides* культурному томату.

## **ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАСЛЕДОВАНИЯ СЛАБОРАССЕЧЕННОГО ТИПА ЛИСТА ТОМАТА**

**В.В. Антонова**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научные руководители – **А.А. Соловьев**, к. б. н., доцент

В настоящее время у культурного томата (*Lycopersicon esculentum*) известно большое число мутаций, затрагивающих развитие листа, причем мутации могут, как увеличивать, так и уменьшать степень его рассеченности относительно дикого типа,

его размеры, что делает томат удобным объектом для изучения морфогенеза листа.

Формирование листа – сложный морфофизиологический процесс реализации программы развития. Тип листа формируется путем контроля числа и направления клеточных делений. Формирование листа определяется взаимодействием между апикальным ростом, формированием боковых меристем и активацией рассеянных меристем, отвечающих за рост листовой пластинки. Благодаря задержке активации рассеянных меристем и росту апекса примордия, который ингибирует формирование боковых меристем, развивается слаборассеченный тип листа.

Все мутантные формы томата сгруппированы на 6 групп по степени рассеченности листа. Для первой группы мутаций (мутация *wiry-6*) характерна сильно редуцированная листовая пластинка. Мутации второй группы имеют цельнокрайние листовые пластинки. Мутация *Lanceolate (La)* является доминантной, но гомозиготные растения не образуют побеговую меристему и семядоли, и эти зародыши гибнут. В гетерозиготном состоянии развиваются мелкие простые ланцетные листья. Мутации третьей группы отвечают за формирование упрощенного, по сравнению с диким типом, листа. Число долей листа уменьшено. При мутациях *coalita (clt)* и *potato leaf (c)* растения не имеют долек и долек, доли не изрезанные – таким образом листья менее сложные, чем у дикого типа. Исходя из слабой степени рассеченности листа у этих форм, они были взяты для определения взаимодействия генов при определении слаборассеченного листа.

## **СРАВНЕНИЕ ПЯТИ СОРТОВ ГЕКСАПЛОИДНОЙ ОЗИМОЙ ТРИТИКАЛЕ ПО АНАТОМИЧЕСКОМУ СТРОЕНИЮ СТЕБЛЯ**

**М.С. Баженов**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научные руководители – **В.С. Рубец**, к. б. н., доцент,

**Е.А. Комарова**, аспирант

Анатомия гексаплоидной тритикале слабо изучена. Мало опубликовано работ о связи анатомии этой культуры с продуктивностью. Наличие подобных связей может оказаться

полезным в селекционной работе при оценке материала коллекции и сортоиспытаний, а также при разработке модели идеального сорта. Для изучения этой проблемы на кафедре селекции и семеноводства полевых культур проводится ряд исследований. Для поиска связей с продуктивностью колоса изучается анатомия подколосового и второго сверху междоузлия.

Задачей работы является изучение анатомического строения второго сверху междоузлия у различных сортов тритикале.

*Методика.* Было изучено 5 сортов из коллекции озимой тритикале (посев 2004 г.) Полевой опыт был заложен в 3-х повторениях. С каждой делянки было взято по 5 растений. В фазу полного цветения стебли срезались, междоузлия фиксировались в 70%-ном этиловом спирте. Тонкие поперечные срезы средней части междоузлий выполнялись с помощью ручного микротомы и окрашивались растворами родамина и водной голубой.

Стебель тритикале – полая в междоузлиях соломина. На поперечном срезе видно, что снаружи он покрыт эпидермой, под которой расположена сильно редуцированная первичная кора, представленная островками хлоренхимы и проводящими пучками первичной коры. Глубже лежит кольцо склеренхимы – главной механической ткани. Далее идёт основная ткань – паренхима, в которой располагаются коллатеральные закрытые проводящие пучки, – это основа проводящей системы стебля. В центре междоузлия имеется полость – медуллярная лакуна.

На временных препаратах под микроскопом подсчитывалось количество элементов структуры стебля. С помощью окуляра-микрометра измерялись (в тангентальном и радиальном направлении) проводящие пучки паренхимы, островки хлоренхимы и пучки первичной коры. Измерялся диаметр медуллярной лакуны, толщина стенки соломины и толщина кольца склеренхимы. Все остальные параметры рассчитывались исходя из предположений о геометрической форме стебля и элементов его структуры.

Для статистической обработки данных использовались методы дисперсионного и корреляционного анализа.

*Результаты.* По толщине стенки соломины, средней площади пучка первичной коры и островка хлоренхимы существенных различий между изученными сортами не обнаружено. Различия *существенны* по таким параметрам, как диаметр стебля, диаметр медуллярной лакуны, число пучков паренхимы и первичной коры, суммарная площадь их поперечного

сечения, число и суммарная площадь сечения островков хлоренхимы (табл.). Наибольшими значениями этих показателей выделяется сорт Виктор. У сорта Талисман суммарная площадь поперечного сечения хлоренхимы, число её островков, площадь сечения склеренхимного кольца и число пучков первичной коры несколько меньше, чем у сорта Виктор.

Сорта Антей и 21406/96 отличаются от других сортов существенно меньшим диаметром стебля и меньшими значениями других показателей, связанных с ним (см. ниже). Кроме того, они имеют более тонкое кольцо склеренхимы. Антей обладает самыми тонкими проводящими пучками паренхимы, количество их примерно такое же, как у сорта Виктор. Сорт 21406/96 отличается самой тонкой соломиной.

Сорт Водолей занимает промежуточное положение между двумя названными выше группами сортов. СОРТУ Антей он уступает только по числу островков хлоренхимы.

Таблица

Некоторые усреднённые параметры анатомического строения второго сверху междоузлия тритикале

Показатель Сорт	Диаметр стебля, мм	Число пучков паренхимы, шт.	Суммарная площадь пучков паренхимы, мм <sup>2</sup>	Толщина склеренхимного кольца, мм
Виктор	4,85	29,8	0,600	0,088
Талисман	4,49	25,5	0,560	0,086
Водолей	4,06	24,5	0,465	0,088
Антей	4,00	28,9	0,464	0,076
21406/96	3,58	23,2	0,416	0,075
<b>НСР<sub>05</sub></b>	<b>0,41</b>	<b>4,6</b>	<b>0,061</b>	<b>0,007</b>

Корреляционный анализ показал, что между многими анатомическими параметрами стебля имеется существенная положительная связь. Так, диаметр стебля тесно коррелирует с суммарной площадью пучков паренхимы ( $r=0,98$ ), с числом пучков первичной коры ( $r=0,90$ ), суммарной площадью островков хлоренхимы ( $r=0,89$ ), площадью сечения кольца склеренхимы ( $r=0,96$ ), площадью выполненной части стебля ( $r=0,997$ ) и диаметром медуллярной лакуны ( $r=0,999$ ). Площадь поперечного сечения стенки соломины определяется, главным образом, диаметром медуллярной лакуны. Площадь поперечного сечения склеренхимы зависит не только от диаметра стебля, но и от толщины её слоя ( $r=0,92$ ). Наблюдается корреляция между числом

пучков первичной коры и числом островков хлоренхимы ( $r=0,98$ ). Причём на один пучок приходится в среднем 1,8 островка.

**Выводы:** Изученные сорта существенно отличаются друг от друга по многим параметрам анатомического строения стебля. Наличие тесных связей между различными параметрами позволит облегчить проведение анатомического анализа соломины тритикале при оценке исходного материала для целей селекции.

## **ОСОБЕННОСТИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ РАСТЕНИЙ РОДА *ROSA***

**А.А. Балакина**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научный руководитель – **О.Ю. Миронова**, к. б. н., доцент

В настоящее время постоянно увеличивается спрос на декоративно-цветочные культуры, которые используются в озеленении, ландшафтном дизайне, при создании парков и садов. В связи с этим актуальной становится проблема сокращения импорта посадочного материала и разработка технологий массового размножения цветочных культур у нас в стране. Низкокачественный и зараженный патогенами посадочный материал не только теряет свои декоративные качества, но зачастую становится источником распространения опасных болезней и вредителей. Проблема может быть успешно решена методом клонального микроразмножения, который позволяет не только получить качественный посадочный материал, но и дает возможность изучить морфогенетические и физиологические особенности роста и развития растений в культуре *in vitro*.

Растения одного рода и разные сорта могут в значительной степени отличаться уровнем тотипотентности клеток и регенерационным потенциалом, что вызывает необходимость дифференцированного подхода к применению и совершенствованию технологий клонального микроразмножения. Выявление оптимальных условий роста и развития растений в культуре *in vitro* позволяет не только реализовать высокие коэффициенты размножения, получить адаптированные к условиям *in vivo* растения-регенеранты, но и снизить

материальные затраты на химические реактивы, гормоны, питательные среды.

Метод клонального микроразмножения роз нашел широкое применение в мире, однако разработанные технологии не являются универсальными для всех групп сортов и видов растений рода *Rosa*. Сведения в литературе часто противоречивы, в большинстве работ объектом исследований является только один сорт, что не дает возможности использовать полученные данные при размножении других сортов, а также выявить общие закономерности развития близких групп и видов.

Целью работы является разработка новых и усовершенствование существующих технологий клонального микроразмножения растений рода *Rosa*, а также выявление особенностей роста и развития растений в культуре *in vitro*. Достижение этой цели связано с решением следующих задач: разработка методики введения в культуру *in vitro* различных эксплантов и изучение зависимости прямой регенерации от типа экспланта; изучение роста и развития растений на разных этапах клонального микроразмножения; подбор оптимальных питательных сред и условий культивирования эксплантов на разных этапах клонального микроразмножения; изучение факторов, влияющих на процессы ризогенеза; разработка эффективных способов адаптации растений-регенерантов к почвенным условиям; сравнительная оценка вегетативного и клонального микроразмножения роз.

Объектами исследований являлись растения рода *Rosa*. В стерильную культуру были введены наиболее распространенные в средней полосе России дикие виды роз, а также наиболее популярные сорта чайно-гибридных (*R. hybrid tea*), плетистых (*R. rambler* и *R. large-flowered climber*), полуплетистых (*R. shrub*) роз.

Были выявлены зависимости активности побегообразования на первичном экспланте, поражения внутренними и внешними инфекциями, интенсивности выделения фенолов от периода развития материнского растения, состава и консистенции питательной среды и размера первичного экспланта. Был проведен сравнительный анализ скорости роста побегов у различных видов роз на различных этапах клонального микроразмножения. В результате проведенных исследований были определены оптимальные условия для ризогенеза и влияние на этот процесс интенсивности освещения, температуры, состава питательной среды и размера экспланта. Особое внимание в работе уделялось ускорению процесса клонального

микроразмножения, что позволяет не только снизить материальные затраты, но и получить растения-регенеранты быстро проходящие период адаптации к почвенным условиям.

Питательная среда была приготовлена на основе среды Мурасига-Скуга. В качестве регуляторов роста использовали фитогормоны: ИУК, ИМК, БАП, ЦЕТОДЕФ в различных концентрациях. Было показано, что для введения в культуру *in vitro* наиболее подходят черенки, отобранные в период с начала активного роста до цветения, что связано не только с тем, что в этот период они имеют наибольшую активность роста, но и с наименьшей пораженностью внутренними инфекциями, а также с низким содержанием фенолов. Однако оптимальные питательные среды для различных групп сортов и видов существенно различались как по концентрации питательных веществ и гормонов, так и по консистенции. Например, плетистые и полуплетистые розы проявили слабую чувствительность к выбору консистенции и состава среды, в то время как для розы альба положительные результаты были получены только на жидкой среде  $\frac{1}{2}$  MS или в дистиллированной воде.

В результате проведенных исследований по каждой группе роз были определены оптимальные условия культивирования эксплантов на всех этапах клонального микроразмножения. Проведенные исследования показывают, что применяемая методика может быть перспективной для ее использования в промышленном цветоводстве.

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ СОРТОВ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПО РЕАКЦИИ НА ПИНЦИРОВКУ КОЛОСА**

**А. Л. Батурин**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А.Тимирязева.

Научные руководители – **Т.И. Хупацария**, к.б.н., профессор;  
**Н.А. Шаймярдянов**, к. с.–х. н., н. с.

Настоящая работа выполнялась на кафедре селекции и семеноводства полевых культур РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева в 2005 году. Экспериментальные посевы проводили на полях селекционной станции им. П.И. Лисицына.

Цель работы состояла в изучении возможности использования реакции колоса на пинцировку для оценки толерантности яровой пшеницы к бурой ржавчине.

Для ее реализации были поставлены следующие задачи:

1. Провести оценку толерантности обычным методом, путём сравнения одних и тех же сортов на инфекционном фоне и защищённых от поражения болезнью инсектицидом.

2. Рассчитать реакцию на пинцировку колоса тех же сортов на обычном и инфекционном фоне.

3. Изучить корреляционные связи между толерантностью и реакцией на пинцировку колоса.

4. Оценить, какие показатели продуктивности колоса (сама продуктивность, масса 1000 зёрен) наиболее подходят для оценки толерантности и реакции на пинцировку.

В качестве объекта исследований служили сорта мягкой яровой пшеницы взятых из конкурсного сортоиспытания лаборатории селекции и семеноводства полевых культур МСХА (ДГ 8,4, 431h – 10a – 15г, 2748h – 2a, 2713h – 1a, Лада, Иволга, 2759h – 7a, 1771h – 3a, 2774h – 4a, 2598h – 2a, 2776h – 1a, 2779h – 4a, 2781h – 7a, 2782h – 4a, 2482h – 11a).

В исследования были взяты устойчивые, сильно и средне поражаемые образцы.

Опытный материал высевали в инфекционном питомнике. Площадь шести рядковой делянки составляла 1,62 м<sup>2</sup>. Норма посева 80 семян на 1 погонный метр. Посев сеялкой СКС6-10(кассетный вариант). Во время вегетации отмечали фенофазы: всходы, выход в трубку, колошение, восковая спелость.

Посев в трехкратной повторности на двух фонах: обычном и инфекционном. Для предотвращения распространения инфекции на обычный фон его обрабатывали фунгицидом тилт-премиум.

Размещение сортов в повторении систематическое. Обработку фунгицидом проводили на контрольном варианте первый раз за день до заражения, а потом через каждые 15 дней, что позволяет снизить на контрольном варианте поражение растений бурой ржавчиной.

На каждой делянке в фазу цветения выбирали 30 типичных колосьев в средних рядках. 15 из них пинцировали удаляя половину колосков на одной из сторон колоса, а остальные служили контролем.

Уборку контрольных и пинцированных колосьев проводили в фазу восковой спелости. После обмолота контрольных и пинцированных колосьев подсчитывали

количество зерен и определяли их массу. Массу 1000 зёрен определяли расчётным путём. Все показатели пинцированных колосьев увеличивали в два раза, кроме массы 1000 зерен.

Реакцию на пинцировку рассчитывали в процентах, как отношение удвоенных показателей пинцированных колосьев (кроме массы 1000 зерен) к показателям интактных колосьев.

Толерантность находили, сравнивая значения показателя контрольных колосьев в заражённом варианте и обработанном фунгицидом в процентах.

При обработке экспериментального материала использовали корреляционный и дисперсионный анализ в изложении Доспехова (1979). В таблице и в тексте \* - соответствует 5% уровню значимости.

Основная идея работы заключается в том, что потери урожая от бурой ржавчины могут быть оценены без сопоставления урожая зараженного участка и контрольного, обработанного фунгицидами. Достаточно изучить реакцию на пинцировку колоса, чем сильнее реакция на пинцировку, тем больше потери урожая данного сорта от болезни. Объясняется это тем что, пинцировка обеспечивает оставшимся колоскам дополнительное питание. Если интактный колос достаточно хорошо снабжается пластическим материалом, то пинцировка не дает эффекта – дополнительное питание не может быть реализовано.

Таким образом, реакция на пинцировку колоса выступает в качестве показателя уровня снабжения колоса питательными веществами.

Если же во время развития зерна ( второй период вегетации) наступают условия (развитие заболевания), которое ухудшает снабжение колоса питанием, то вероятно реакция на пинцировку должна показать степень влияния неблагоприятного фактора (поражается болезнью) на растение, а величина ее (реакции на пинцировку) степень устойчивости или не устойчивости сорта к этому депрессирующему фактору, чем сорт менее устойчивый , тем большей реакцией на пинцировку он обладает(в нашем опыте в качестве критерия устойчивости выступает толерантность).Это подтверждают данные нашего опыта (табл. 1).

Таблица 1.

Коэффициенты корреляции между толерантностью и реакцией на пинцировку, 2005 г.

Продуктивность	М 1000 зерен
- 0,60*	- 0,51*

В нашем опыте также наблюдается отрицательная корреляция средней силы между толерантностью и величиной реакции на пинцировку, т.е. чем меньше реакция на пинцировку, тем больше уровень толерантности. Корреляционная зависимость больше, если толерантность и реакция на пинцировку рассчитана по продуктивности колоса, чем, если эти показатели рассчитываются по значению массы 1000 зерен.

## **ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА БЕЛКОВ КАРТОФЕЛЯ ДЛЯ РАЗЛИЧЕНИЯ СОРТОВ И ЛИНИЙ**

**В.А. Гушин, В.А. Корнеева, Е.В. Филиппенко**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научный руководитель – **А.А. Соловьев**, к.б.н., доцент

Одной из основных проблем в современном семеноводстве, а также в семенном процессе картофеля является различение и идентификация генотипов. Для этого используют различные методы, среди которых наибольшее распространение имеет описание морфологических признаков. Другим доступным методом является использование электрофореза запасных белков.

В основе подхода лежит такое явление, как полиморфизм – проявление прерывистой изменчивости, обусловленной аллельным состоянием одного и того же гена или кластера генов.

В клубнях картофеля содержится 70% белка (в пересчете на сухую массу), который представлен на 60-70% легкорастворимыми формами – альбуминами и глобулинами (Новиков, 1994). На основе полиморфизма этих белков возможна идентификация внешне трудно различимых сортов.

Электрофорез как метод сортовой идентификации складывается из следующих этапов: выделение белка и подготовка его к анализу; приготовление геля и процедура электрофореза; окрашивание белковых компонентов в геле; их идентификация; запись электрофоретического спектра в виде белковой формулы для последующего использования ее в идентификации и регистрации сортов, биотипов и линий (Конарев, 2001).

Материалом исследования служила коллекция сортов картофеля кафедры генетики и Полевой опытной станции РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, включающая сорта Бриз, Колорит, Явар, Надежда, Скарлет, Криница, Зарница, Синтез, Здабыток,

Живица, Минск, Лилея, Орхидея, Дельфин, Брижит, Веснянка, Атлант, Ароза, Журавинка, Альпинист, Сузория, Выток, Ласунок, Одиссея, Нептун, Дубрава, Лазурит, Удача, Чародей, Жуковский ранний, Снегирь, Луговской, а также клубни меристемных линий лаборатории микрклонального размножения картофеля Снегирь, Ред Скарлет, Чародей, Сатурна, Ильинский, Петербургский.

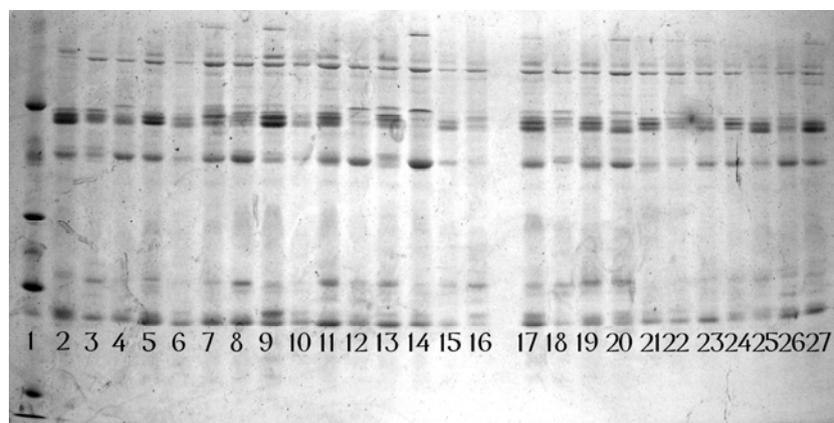
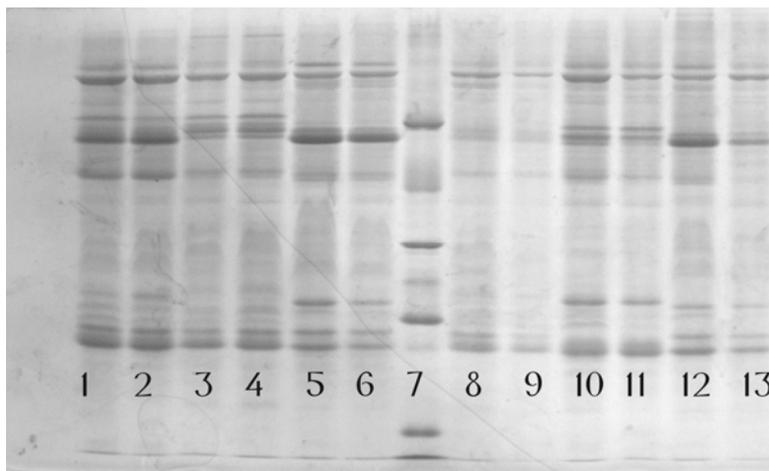


Рис. 1. 1 – маркер, 2 – Бриз, 3 – Колорит, 4 – Явар, 5 – Надежда, 6 – Скарлет, 7 – Криница, 8 – Зарница, 9 – Синтез, 10 – Здабыток, 11 – Живица, 12 – Минск, 13 – Лилия, 14 – Архидея, 15 – Дельфин, 16 – Брижит, 17 – Атлант, 18 – Ароза, 19 – Журавинка, 20 – Альпинист, 21 – Сузория, 22 – Выток, 23 – Ласунок, 24 – Одиссея, 25 – Нептун, 26 – Дубрава, 27 – Лазурит.

Электрофорез проводили по методике (Мусин и др., 2003), с модификациями. Высечку ( $1 \text{ см}^3$ ) с апикального конца клубня гомогенизировали в фарфоровой ступке с 5 мл экстрагирующего буфера. Выделение белков проводили с использованием буфера (Дементьева, 2006).

В результате проведенной работы подобрана методика электрофореза запасных белков картофеля и получены белковые профили сортообразцов из коллекции кафедры генетики МСХА-РГАУ имени К.А.Тимирязева. Спектры белков строго идентичны для каждого сорта, что подтверждает возможность использования этой методики для идентификации сортов (рис.1). Анализ клубней меристемных линий, полученных в лаборатории микрклонального размножения Полевой опытной станции

показал, что линии одного сорта не имеют отличий по спектрам



белков между собой и от исходного сорта.

Рис.2. 1-2 – Снегирь, 3-4 – Жуковский, 5-6 – Чародей, линия 1, 7 – маркер, 8-9 – Удача, 10-11 – Луговской, 12-13 – Чародей, линия 2.

Так на рис. 2 показано, что растения внутри микроклонально размноженных линий, так и между линиями, выделенными из различных меристем, обладают одинаковыми спектрами, как в случае линий 1 и 2 сорта Чародей. В то же время наблюдаются существенные отличия между сортами (рис. 1 и 2). Таким образом, модифицированная методика электрофореза белков может быть использована для различения и идентификации сортов и сортообразцов картофеля.

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ СЕМЕНОВОДСТВА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР В РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ

**М.В. Денькин**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научный руководитель – **А.Н. Березкин**, д.б.н, профессор

Только сорт и гибрид дает новые возможности сельскохозяйственному производству. Успехи селекции реализуются через четко налаженную систему семеноводства. Состояние и перспективы развития семеноводства в России удобно оценивать путем анализа положительных и отрицательных сторон по следующей схеме: внутренние факторы (сила и слабость), внешние факторы (возможности и риск).

Какие внутренние положительные сильные стороны индустрии семян на сегодняшний день в России и Рязанской области?

1) Успехи отечественной селекции по большинству культур. В настоящее время выдающимся достижением является сорт озимой пшеницы Московская 39.

2) Наличие сети научных учреждений по селекции и семеноводству. Рязанская область находится в зоне деятельности НИИСХ ЦРНЗ и Рязанского НИПТИ АПК. Селекционерами этих институтов ведутся большие совместные работы по селекции озимой и яровой пшеницы и ячменя.

3) В Рязанской области имеется достаточное число госсортоучастков.

4) Наличие в области 25 районных госсемиинспекций.

5) Опыт организации промышленного семеноводства по ряду культур в таких районах области как Михайловский, Милославский, Новодеревенский, Скопинский, Сараевский, Сасовский).

6) Опытные кадры селекционеров, сортоиспытателей, специалистов по оценке качества семян, семеноводов.

7) Практически подготовленная законодательная база в области селекции и семеноводства (закон «О селекционных достижениях», федеральный закон «О семеноводстве»).

8) Научные основы семеноводства, над разработкой которых трудились такие ученые, как Н.И. Вавилов, П.И. Лисицын, П.Н. Константинов, П.П. Лукьяненко, Г.В. Гуляев и др.

9) Появление на рынке семян ряда семеноводческих компаний.

Какие слабые стороны можно отметить?

1) Нарушение экономических отношений между бывшим республиками в связи с распадом СССР и, как следствие, возникновение дисбаланса по заготовкам семян по целому ряду культур.

2) Недостаточно разработанный механизм по сбору селекционного вознаграждения (роялти).

3) Недостаточные инвестиции со стороны отечественных семеноводческих компаний в индустрию семян и селекцию.

4) Резкое снижение государственных инвестиций в селекцию и, как следствие, уход перспективной молодежи в иные сферы деятельности.

5) Невостребованность семян высших репродукций, обусловленная прежде всего неплатежеспособностью основных потребителей семян.

6) Недостаток опыта работы в условиях рыночной экономики.

Однако практически все вышеуказанные слабости могут быть превращены в сильные стороны индустрии семеноводства.

Внешние факторы, благоприятствующие развитию семеноводства:

1) Членство в Международной ассоциации по оценке качества семян (ISTA) с 1924 г.

2) Членство в Международном союзе по охране новых сортов растений (UPOV).

3) Вступление в Организацию экономического сотрудничества и развития (ОЕСД). ОЕСД в связи с международной торговлей разрабатывает единые подходы к сортовой сертификации.

4) Членство в Международной федерации по семеноводству (ISF).

Реализация этих пунктов программы позволит России быстрее адаптироваться к требованиям ВТО.

## **МАЛЫЕ РНК В БОЛЬШОЙ НАУКЕ**

**А.В. Емельянов, И.В. Киров**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научный руководитель – **А.А. Соловьев**, к.б.н., доцент

В последнее время внимание научного мира всё больше приковано к так называемым малым РНК. Этот класс включает в себя одно- и двуцепочечные молекулы РНК, длиной от 22 до 29 н.(п.н.), которые комплементарно (или частично комплементарно) связываются с мРНК-мишенью, разрушают её или ингибируют трансляцию. Этот механизм, по-видимому, присутствует у всех эукариот и имеет название посттранскрипционного сайленсинга

генов (PTGS – Post-Transcriptional Gene Silencing). Это своеобразная иммунная система внутри клетки, не только обеспечивающая защиту от экзогенного генетического внедрения, и контролирующая стабильность клеточного генома.

Наиболее известными и относительно изученными представителями данного класса являются miRNA (микро-РНК). миРНК – это одноцепочечные РНК длиной около 22 нуклеотидов, являющиеся продуктами генных локусов. В связи с этим биогенез миРНК состоит из двух основных процессов – транскрипции длинного первичного транскрипта – прай-миРНК (pri-miRNA) и созревания, включающего процессинг прай-миРНК с последующим образованием РНК предшественников (pre-miRNA), выведение их в цитоплазму, и образование миРНК. Завершающими этапами посттранскрипционного сайленсинга являются связывание миРНК с мРНК-мишенью с дальнейшим ингибированием трансляции или разрушением мРНК. В конечном счёте оба этих эффекта приводят к снижению содержания белкового продукта в клетке. Поскольку это действие миРНК направлено на мРНК можно говорить не только о регулирующей функции, но и о защитной, заключающейся, во-первых, в деградации чужеродных мРНК, а, во-вторых, в обеспечении стабильности генома (речь идёт в первую очередь о транспозонах) и нормальной экспрессии генов.

Во всех случаях, когда короткие дцРНК происходят не в результате транскрипции генов миРНК, а также в случае их экзогенного происхождения их принято называть киРНК (короткие интерферирующие РНК – small interfering RNA – siRNA), запускающими процесс РНК-интерференции. Это явление обнаружено Fire et al. в 1998 г. у нематоды *C.elegans*. Было обнаружено, что введение двуцепочечной РНК в нематоду приводит к замолчанию генов гомологичных введённой и образованию малых РНК. Позже выяснилось, что этот феномен широко распространён среди большинства организмов, включая простейших, животных и растений. киРНК это короткие, длиной 23-29 п.н., двуцепочечные (!) РНК. Они образуются из тех же мРНК, а так же из РНК-интермедиатов транспозонов и вирусов, на которые они оказываются нацеленными в процессе РНК интерференции. В ходе этого явления происходит разрезание ферментами РНК мишеней на киРНК и дальнейшее их связывание с комплементарными участками мРНК, что приводит к её разрушению. В связи с этим свойством киРНК стали мощным инструментом в руках учёных. И всё больше находят своё

применение в секвенировании генома, лечении вирусных и онкологических заболеваний.

миРНК и киРНК имеют общий центральный биогенез и могут выполнять взаимозаменяемые биохимические функции, однако эти два класса РНК, сайленсирующих экспрессию генов, имеют важные различия в происхождении, степени эволюционной консервативности и типу генов, подвергаемых сайленсингу.

## **ПОЛИМОРФИЗМ ПО СПЕКТРАМ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ СОРТА ЗВЕЗДА И ВЫВЕДЕННЫХ НА ЕЕ ОСНОВЕ ЛИНИЙ ЗВЕЗДА НИЗКОСТЕБЕЛЬНАЯ И ЗВЕЗДА ОДНОСТЕБЕЛЬНАЯ**

**М.В. Климушина**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К. А. Тимирязева

Научный руководитель - **А. А. Соловьев**, к. б. н., доцент

Звезда – первый из сортов озимой пшеницы, полученный в Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева методом отдаленной гибридизации с использованием ступенчатых скрещиваний  $F_1$  [*Triticum durum* (Харьковская 46) × *Agropyron glaucum*] × *T. aestivum*  $F_1$  (Мироновская 808 × Лютеценс 329). С 1992 г. районирован в Московской области. Оригинатор – А. А. Кондратьев. Звезда существенно превышает по урожайности сорт Мироновскую 808, обладает достаточно высокой морозостойкостью и выгодно отличается по хлебопекарным качествам. Особенностью этого сорта является его развитие, которое очень близко к пырею. Звезда формирует мощный стелющийся куст с множеством побегов. Многолетние наблюдения свидетельствуют о большей, чем у обычных сортов, частоте появления в нем спонтанных мутантов (Кондратьев, Кондратьева, 1992).

Сорт Звезда характеризуется высоким полиморфизмом по разным признакам. Из него были отобраны линии Звезда низкостебельная и Звезда одностебельная. Для изучения полиморфизма сортов используют различные методы, среди которых наиболее распространенным является электрофорез запасных белков.

Белковый полиморфизм связан с наличием аллельных форм отдельных генов, что часто проявляется в наличии

различающихся белковых молекул. Среди запасных белков пшеницы часто используются проламины. Проламины – это группа белков, которая первоначально была выделена на основании растворимости в водно-спиртовых смесях, обычно в 60-70 % этаноле. Проламины составляют около 86 % общего белка зерна (Горюнова, 2005). Особенностью запасных белков пшеницы, в частности, глиаина, является огромная генетическая изменчивость (полиморфизм) в пределах вида и отдельных популяций.

Целью работы было исследование полиморфизма по спектрам запасных белков с помощью электрофореза у сорта Звезда и линий, созданных на ее основе. Анализировали случайную выборку из 100 зерен урожая 2002 г. озимой пшеницы сорта Звезда и полученных на ее основе линий Звезда низкостебельная и Звезда одностебельная.

Белки выделяли 70% этиловым спиртом с последующим центрифугированием при 10 тыс. оборотов 10 мин. Электрофорез осуществляли в камере HSI (Hoefler Scientific Instruments) модели SE 640. Гели окрашивали смесью красителей Coomassie Brilliant Blue G-250 и Coomassie Brilliant Blue R-250.

По результатам электрофоретического анализа сорта Звезда выделено 10 биотипов, среди которых 5 биотипов имели частоту встречаемости более 10%.

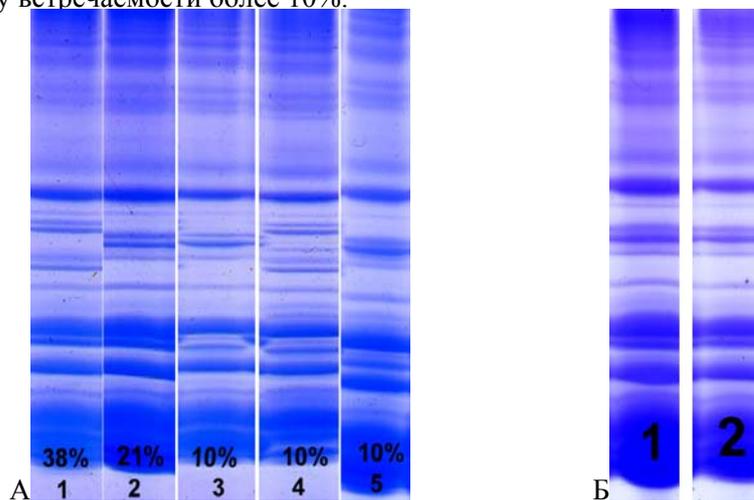


Рис. 1. А – электрофоретические спектры запасных белков основных биотипов сорта Звезда; Б – электрофоретические спектры линий Звезда одностебельная (1) и Звезда короткостебельная (2).

Высокий уровень полиморфизма в данном случае по запасным белкам, вероятно, является основой для отбора из сорта Звезда новых селекционных образцов. При этом следует отметить, что отобранные линии обладают одним спектром и полиморфизм по ним не выявлен, что свидетельствует о большей селекционной проработке данного материала.

Спектры запасных белков линий Звезда одностебельная и Звезда низкостебельная оказались идентичны и совпали со спектрами одного из выделенных и наиболее встречаемых биотипов сорта Звезда, частота встречаемости которого составляла 21 %.

Выполненный анализ электрофоретических спектров зерен из 10 отдельных колосьев сорта Звезда урожая 2004 г показал, что внутри одного колоса полиморфизм не наблюдается, но между колосьями могут быть различия по спектрам запасных белков.

Таким образом, сорт Звезда обладает высоким полиморфизмом по запасным белкам, что послужило основой для дальнейшей селекционной проработки и отбору новых линий – Звезда низкостебельная и Звезда одностебельная..

## **ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ СВЕТОВОЙ И ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ДЕЭТИОЛИРОВАНИЯ ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare* L.)**

**А.К. Кравцов**

Лаборатория экспрессии генома растений  
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН  
Научный руководитель - **Я.О. Зубо**, к.б.н.

Развитие организма зависит от генетической программы развития и повторяется из поколения в поколение. Закодированы не только морфологические признаки, например форма листьев, но и время их появления. Известно, что возможна регуляция развития, причём направленное изменение скорости или характера этого процесса, может быть обусловлено, как внутренними, так и внешними факторами. Изучением этапов онтогенеза во всём мире занимаются очень давно. Наиболее важным в развитии растения считается ювенильный этап, или этап молодости. На этом этапе происходит процесс перехода растения от гетеротрофного типа питания к фотоавтотрофному. Наша лаборатория заинтересовалась

физиолого-молекулярными механизмами световой и гормональной регуляции процесса деэтиоляции (позеленения). На этом этапе осуществляется переход проростка от роста в темноте (в почве) к росту на свету. При этом реализуется стратегия выживания растения. Оно экономит органические вещества, формируя лишь зачатки листьев. При достижении поверхности земли свет вызывает мгновенные изменения: тормозится удлинение стебля, происходит его утолщение, разворачиваются листья, развиваются хлоропласты, и начинается осуществление самостоятельного питания растений за счёт процесса фотосинтеза.

Деэтиоляция характеризуется активацией экспрессии генов белков, участвующих в развитии и функционировании хлоропластов, синтезом фотосинтетических пигментов, изменением ультраструктуры хлоропластов. По существующим в настоящее время представлениям за оптимальную адаптацию к условиям освещения, связанную с выходом проростка из почвы на свет, отвечает фитохромная система. Если проросток по какой-либо причине задержится в почве, наступает необратимая этиоляция, при которой растение уже не в состоянии адаптироваться к свету. Нами было показано, что при освещении 10-ти дневных этиолированных листьев ячменя сорта Луч (*Hordeum vulgare* L.) развитие хлоропластов резко задерживается по сравнению с 4-х и 6-ти дневными растениями, а 12 дневные этиолированные растения ячменя уже не могут позеленеть на свету. Наряду с фитохромной системой важную роль в процессе деэтиоляции могут играть фитогормоны, прежде всего цитокинины и абсцизовая кислота (АБК). Для изучения механизма гормональной регуляции процесса деэтиоляции нами начаты исследования на этиолированных растениях ячменя. Было показано, что освещение листьев отделенных от 6-дневных этиолированных растений и обработанных цитокинином (6-бензиламинопурин, БАП), уже через 4 часа приводило к увеличению содержания хлорофилла в 1,2 раза, а через 6 часов - в 2 раза в сравнении с листьями, инкубированными на воде.

Для определения интенсивности экспрессии индивидуальных генов пластома, нами был использован метод run-on транскрипции. Было установлено, что с возрастом в этиолированных листьях ячменя уменьшается интенсивность транскрипции практически всех пластидных генов. Обработка БАП оказывала незначительное влияние на транскрипцию пластидных генов этиолированных листьев, находящихся в темноте. Однако при освещении этиолированных листьев эффект

цитокинина становился значительно более сильным. При 4-х часовом освещении этиолированных листьев 6-ти дневного ячменя, увеличивалась интенсивность транскрипции *psbA*, *rbcL*, *rrn16*, *rpl23*, *atpB*, и *psbD* генов (свет регулируемые гены). Кроме того, нами было установлено, что при освещении этиолированных листьев, БАП активировал интенсивность транскрипции не только свет регулируемых генов пластома, но и значительное количество генов, которые не активируются светом - *3rps12*, *clpP*, *ORF18*, *petLG*, *psbB*, *rps4*, *petB*, *trnA*. Стимулирующее действие 6-БАП на транскрипцию генов пластома, возможно, и приводит к более быстрому позеленению обработанных цитокинином листьев. Поскольку в регуляции всех процессов в клетке одновременно участвуют многие фитогормоны, то значительный интерес представляет изучение их взаимодействия в регуляции деэтиоляции растений. Особая роль может принадлежать АБК, которая участвует в адаптации растений в условиях стресса, регулирует прорастание и рост растений. Влияние АБК на деэтиоляцию, может быть связано ещё и с тем, что её рецептором является F-субъединица Mg-хелатазы – фермента биосинтеза хлорофилла, а также молекулы, участвующей в передаче «пластидного» сигнала. Возможно, от экспрессии гена данного белка зависит экспрессия других генов кодирующих белки хлоропластов, как ядерного, так и пластидного кодирования, участвующие в сборке и функционировании светособирающих и хлорофиллсвязывающих комплексов.

Работа частично поддержана грантами РФФИ № 04-04-48247; НШ-3692.2006.4

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИНИЙ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ SSR-МАРКЕРОВ, СПЕЦИФИЧНЫХ ДЛЯ D-ГЕНОМА**

**Д.Н. Лапин**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К. А. Тимирязева

Научные руководители – **М.Г. Дивашук**, ассистент;  
**А. А. Соловьев**, к. б. н., доцент

При создании вторичных 6х тритикале в ржаном геноме самой неустойчивой является хромосома 2R, которая, как правило, замещается 2D-хромосомой или претерпевает межхромосомные перестройки с участием той же 2D- хромосомы. Хромосома 2D

несет нечувствительность к продолжительности дня, контроль даты выколашивания (*Ppd 1*). В ней также находятся гены отвечающие за снижение высоты растения, продолжительности вегетационного периода, числа колосков в колосе, завязываемости, увеличение массы 1000 зерен и устойчивости к полеганию (например, *Rht 8* и *Ppd 1*). Она отвечает за полифенолоксидазную активность в наливающемся и зрелом зерне, а это вкусовые и технологические качества выпекаемого хлеба. Кроме того известно, что с ней ассоциируется отзывчивость на культуру тканей. Важно, что в ней локализована устойчивость к концентрации иона алюминия.

Целью работы являлось определение уровня ploидности и выявление транслокаций и замещений с участием хромосом D-генома в линиях яровой тритикале из коллекции кафедры генетики для дальнейшего их включения в программу гибридизации.

В качестве основного материала использовали линии Л 8-1, Л 8-3, Л 8-4, Л 8-6, Л 12, Л 13, Л15, Л 22, Л 24, Л 26, к-1433, S 17, S 17-4, 131/16-2, PI 587512. Всего 15 линий. В качестве контролей использовали яровую рожь сорт Селенга, мягкую пшеницу сорта Иволга и Chinese spring, 2R/2D-замещенную линию тритикале к-1185. ДНК выделяли из проростков по методике Van der Beek и др. (1991).

Одним из наиболее эффективных и быстрых методов идентификации отдельных хромосом пшеницы является использованием микросателлитных маркеров. Использованные маркеры и оптимизированные условия ПЦР были и представлены в табл. 1. Детекцию результатов амплификации проводили в 2% агарозном геле (180 V, 0,5X TBE). Работа выполнена на кафедре генетики и Центре молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Таблица 1

Список маркеров, использованных в работе

№ п/п	Название локуса	Хромосома, плечо	Размер бэнда, п.н.	Температура отжига праймеров, °С
1	2	3	4	5
1	Xbarc 271	1DL	158	56
2	Xbarc 270	3DL	249	58
3	Xbarc 1183	4DL	254	60
4	Xbarc 110	5DL	200	56

5	Xbarc 96	6DL	190	56
---	----------	-----	-----	----

Таблица 1 (продолжение)

1	2	3	4	5
6	Xbarc 53	7DL	298	60
7	Xgwm 349	2DL	243	66
8	Xgwm 157	2DL	110	62
9	Xbarc 228	2DL	177	62
10	Xbarc 1143	2DL	193	57
11	Xgwm 539	2DL	143-157	62
12	Xgwm 301	2DL	171	62
13	Xbarc 168	2DS	174	58
14	Xgwm 102	2DS	145-153	60
15	Xgwm 484	2DS	143-153	60

Анализ проявления маркеров, специфичных для D-генома, показал, что все исследуемые линии являются гексаплоидными. По хромосоме 2D выявлена амплификация на 7 линиях из 15. Это линии Л 8-1, Л 8-3, Л 8-4, Л 8-6, Л 12, Л 26, к-1433. По маркерам, специфичным для других хромосом амплификации не обнаружено.

Линии с генетическим материалом хромосомы 2D проверяли на наличие других маркеров, специфичных для нее. Выявлены различия по амплификации, которые могут свидетельствовать о различном происхождении этой хромосомы (табл. 2).

Таблица 2

Различия в проявлении маркеров, специфичных для хромосомы 2D у линий яровой тритикале

Линии	Xgwm 349	Xbarc 228	Xgwm 301
Л 12, Л 26	+	+	+
Л 8-1, Л 8-3, Л 8-4, Л 8-6	+	+	-
К 1433	+	-	-

## РЕАЛИЗАЦИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КОЛОСА ТРИТИКАЛЕ

**Нгуен Тхи Тху Линь**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К. А. Тимирязева

Научные руководители - **В.С. Рубец**, к.б.н., доцент;

**Е.А. Комарова**, аспирант

Материал и методика. Эксперимент проводился в 2006 году на полях лаборатории селекции и семеноводства полевых культур РГАУ-МСХА им.К.А.Тимирязева. В опыт были взяты 10 сортов гексаплоидной озимой тритикале, различающихся по продуктивности колоса (Виктор, Никлап, Кентавр, Гармония, АДМ-9, Водолей, Стрельна 11, 21406/96, Талисман, Антей). Повторность опыта – трехкратная, размещение – систематическое, площадь делянки – 1,5 м<sup>2</sup>. При наступлении этапов органогенеза с каждой делянки срезалось по 5 растений (итого 15 растений каждого сорта).

Определение потенциальной продуктивности проводилось по методике Ф.М. Куперман и др. (1979). На VII и IX этапах органогенеза осуществлялся подсчет числа колосков и цветков в колосках с помощью стереоскопического микроскопа МБС-2. Рельную продуктивность определяли на двенадцатом этапе органогенеза, после наступления полной спелости зерна. При этом подсчитывали число колосков в колосе, число и массу зерен в колосе. Процент реализации потенциальной продуктивности представляет собой отношение числа зерен на 12 этапе органогенеза к числу цветков в колосе на 7 этапе органогенеза, выраженное в процентах.

### Результаты.

Большую роль в получении высокого урожая тритикале играет масса 1000 зерен и число зерен с единицы площади (Сергеев, 1989). Урожайность зависит и от числа колосков в колосе, а также зерен в колоске (Хуртина, 2005). Однако при чрезмерном увеличении количества колосков удлиняется вегетационный период. В условиях сельскохозяйственного производства лишь в небольших случаях фертильными оказываются более половины цветков и фактическая продуктивность значительно ниже потенциально возможной (Шевченко и др., 1997). Проследим, как происходило поэтапное

изменение числа цветков в колосе тритикале у исследуемых 10 сортов (таблица).

На V-IX этапах органогенеза формируются цветки в колосках. На VII-VIII этапах можно установить некоторые различия, свойственные разным сортам (Куперман и др., 1982). Максимальным числом заложившихся цветков на VII этапе выделяются Никлап (274,8), Виктор (230,7), Антей (227,1) и Талисман (226,4), минимальным – Гармония (160,1). К IX этапу происходит редукция цветков. Меньше всего цветков редуцируется у сорта Гармония (80,1), а больше всего – у сорта Талисман (161,4).

В период с X по XII этап формируются и наливаются зерновки. Этот период начинается сразу после цветения и завершается полной спелостью. От числа заложившихся к фазе цветения цветков (VII этап) наибольшее число зерновок (IX этап) формируется у сортов Антей (75,1%) и Талисман (74,7%), а наименьшее – Кентавр (58%).

Таблица  
Потенциальная и реальная продуктивность колоса сортов гексаплоидной озимой тритикале

Сорта	Число цветков в колосе, шт			Поэтапная реализация потенциальной продуктивности, %		
	7 этап	9 этап	12 этап	7-9	9-12	7-12
1. Виктор	230,7	88,0	56,7	38,5	63,9	24,6
2. Никлап	274,8	87,0	54,2	31,6	62,8	19,8
3. Кентавр	168,1	71,0	41,1	42,3	58,0	24,7
4. Гармония	160,1	80,0	52,1	49,7	66,3	32,9
5. АДМ-9	223,9	65,0	46,0	29,3	71,5	20,6
6. Водолей	169,6	64,0	46,1	37,8	72,0	27,3
7. Стрельна 11	176,3	75,0	54,0	42,9	71,7	30,8
8. 21406/96	196,1	68,0	43,0	34,9	63,3	21,9
9. Талисман	226,4	65,0	48,3	28,7	74,7	21,3
10. Антей	227,1	68,0	50,9	29,9	75,1	22,4
НСР05	18,1	10,1	7,3	6,5	9,9	4,6

Сорта Виктор и Никлап имеют самый озерненный колос (56,7 и 54,2 зерен, соответственно), причем Виктор реализует свою потенциальную продуктивность на 24,6%, а Никлап – на 19,8%. Т.е. высокая потенциальная продуктивность сорта Никлап остается в значительной степени нереализованной. Высокое число зерен в колосе также образуется и у сортов Стрельна 11 и Гармония и (54,0 и 52,1 зерен), что составляет 30,8% и 32,9% от сравнительно небольшого числа заложившихся на VII этапе цветков. Сорта Кентавр и 21406/96 являются самыми низкоозерненными (41,1 и 43,0 зерен). Кентавр реализовал свой потенциал на 24,7%, а 21406/96 – лишь на 21,9%.

Таким образом, потенциальная продуктивность тритикале, определяемая на VII этапе органогенеза, не во всех случаях отражает реальную ( $r=0,12$ ), тогда как число цветков в колосе на IX этапе тесно связано с числом зерен в колосе ( $r=0,77$ ).

## ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ТРАНСГЕННОГО ТАБАКА ПОКОЛЕНИЙ T<sub>0</sub> И T<sub>1</sub>

**О.А. Майер**

Российский государственный аграрный университет –  
МСХА имени К.А.Тимирязева  
Научный руководитель – **А.А. Соловьёв**, к.б.н., доцент

Трансгенные, или генетически модифицированные, организмы вызывают повышенный интерес общества, что связано с их недостаточной изученностью.

Одной из характеристик трансгенных растений является их цитогенетическая нестабильность. В связи с возрастающими масштабами использования генетически модифицированных растений в научных и коммерческих целях чрезвычайно важным является выяснение влияния чужеродной ДНК на экспрессию собственных генов растения, и в частности, анализ T-ДНК-мутаций (инсерционных мутаций).

Цель данной работы – исследование растений трансгенного табака поколений T<sub>0</sub> и T<sub>1</sub>. Для достижения этой цели необходимо было решить следующие задачи:

- выявить из популяции трансформированного табака трансгенные растения, используя ПЦР – анализ;

- провести индивидуальный подбор сред и концентрации канамицина для отбора трансгенных растений поколения T<sub>1</sub>, полученного от самоопыления T<sub>0</sub>;
- изучить характер проявления мутантного фенотипа у трансгенных и нетрансгенных растений;
- проанализировать расщепление по устойчивости к канамицину на селективной среде с целью выявления количества инсерций трансгена в геноме.

Материалом исследований служили растения табака (*Nicotiana tabacum*, L.), полученные агробактериальным методом в лаборатории индуцированного рекомбинаогенеза Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии. Конструкция включает в себя целевой ген *recA* (из *E. coli*) и селективный ген устойчивости к канамицину. ПЦР-анализ проводили в Центре молекулярной биотехнологии РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева.

Среди проанализированных растений были выявлены трансформанты с различным спектром отклонений: волнистым венчиком, удлинённым пестиком (лонгостилия), изменением числа лепестков и тычинок (четыре и шесть в одном цветке). Как показал ПЦР-анализ эти отклонения были выявлены только среди трансгенных растений. Среди нетрансформированных и нетрансгенных (по ПЦР) растениях табака такие отклонения не выявлены. Цитологический анализ мейотического деления выявил нарушения деления в виде отставания хромосом в анафазе-II у трансгенных растений.

При проведении индивидуального подбора сред были использованы три среды: MS-стандартная, MS-модифицированная (без добавления хелата железа и CaCl<sub>2</sub>) и B<sub>5</sub>, с различными концентрациями канамицина: 100, 150, 200 и 300 мг/л. Лучшей средой для отбора трансгенных растений была признана MS-среда без добавления хелата железа и CaCl<sub>2</sub> с концентрацией канамицина 200 мг/л.

Таблица 1

Анализ расщепления по устойчивости к канамицину на селективной среде

Растение	Расщепление $Km^+$ : $Km^-$		$\chi^2$ df=1	ПЦР	Предполагаемое число инсерций
	Факт.	Теор.			
E35NLSV <sub>1</sub> 10-9	465:3	—	—	+	Более двух независимых
E35V <sub>1</sub> 10-10a	148:54	3:1	0,23	+	одна
E35V <sub>1</sub> 10-22	89:100	1:1	0,643	+	одна
E35V <sub>1</sub> 10-1Б	0:219	—	—	—	—
E35V <sub>1</sub> 10-4	141: 77	—	—	+	—
E35VII.5-2a	268:96	3:1	—	+	одна
E35 NLSVII.5-7	2: 149	—	—	—	—

Анализ поколения T<sub>1</sub>, полученного от самоопыления как трансгенных, так и нетрансгенных растений проводили на подобранной среде. Показано, что при интеграции экзогенной ДНК в геном растения, перенесенные гены проявляются как доминантные мутации и наследуются согласно законам Менделя. Подобным образом дело обстоит и с маркерным геном *nr1II* (геном устойчивости к канамицину). Так расщепление  $Km^+$ :  $Km^-$ , соответствующее 3:1 свидетельствует о наличии одной вставки, 15:1- наличие двух независимых инсерций. Отклонения от расщеплений 3:1 и 15:1 могут свидетельствовать о наличии двух сцепленных вставок. В случае, когда все потомство от самоопыления  $Km$ -устойчивое это может свидетельствовать о присутствии множественных (более двух) независимых вставок трансгена. Для дальнейшего исследования более предпочтительны растения с единичными вставками, так как нестабильность экспрессии перенесенных генов часто связывают с интеграцией нескольких копий трансгена как в один, так и в разные районы генома. Как показано в табл. 1 из 7 проанализированных потомств, отобранных на селективной среде растений табака, 3 растения имели 1 вставку трансгена и в 1 растении – предполагается наличие более двух инсерций.

Таким образом, проведенные исследования позволяют выявить трансгенные растения из общей популяции табака, определить предположительное число инсерций в их геноме и доказывают цитологическую и генетическую нестабильность этих растений. Отобранные на селективной среде трансгенные растения будут служить материалом для дальнейших исследований, в

частности для изучения экспрессии целевого гена, влияния продуктов экспрессии на рекомбинацию в геноме табака.

## **АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ DS-ЭЛЕМЕНТА НА ЧАСТОТУ РЕКОМБИНАЦИИ МЕЖДУ МАРКЕРНЫМИ ПРИЗНАКАМИ ВТОРОЙ ХРОМОСОМЫ У ГИБРИДОВ ТОМАТА С УЧАСТИЕМ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ**

**Н.К. Майер**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А.Тимирязева

Научный руководитель – **А.А.Соловьёв**, к.б.н., доцент

Мобильные элементы могут оказывать значительное влияние на экспрессию близлежащих генов, что проявляется на уровне фенотипа. Неавтономный Ds-элемент является стабильным и неспособным самостоятельно вырезаться и повторно встраиваться в новые сайты генома. Мобильный элемент не имеет собственного фенотипического проявления, но в то же время может являться мутагенным фактором, и мутации обычно проявляются на уровне фенотипа. Имеются различные данные, свидетельствующие об изменении морфологического строения трансгенных растений томата в зависимости от положения мобильного элемента в их геноме, числа и типа транспозирующихся элементов.

Целью данного исследования является оценка влияния Ds-элемента кукурузы на наследование маркерных признаков, локализованных в хромосоме II, у гибридов между маркерной формой Mo755 и трансгенными растениями, созданными на основе сорта Moneymaker и несущих Ds-элемент кукурузы в разных хромосомах.

Анализ наследования генов проводили по расщеплению гибридов второго поколения. Частоту рекомбинации (rf) рассчитывали классическими методами (методами произведений и извлечения квадратного корня из доли двойных рецессивов).

В качестве материала использовали серию трансгенных растений томата с Ds-элементом кукурузы в разных хромосомах, любезно предоставленную J. Jones (Великобритания).

Результаты анализа частоты рекомбинации между маркерными признаками, локализованными в хромосоме II, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Частоты рекомбинации между маркерными признаками у гибридов с участием трансгенных форм с Ds-элементом кукурузы

Пары локусов	Расстояние по ген. карте	Mm x Mo755	1561E x Mo755	tds11 x Mo755	tds13 x Mo755	tds14 x Mo755	tds15 x Mo755
wv - d	29	33,0±0,7	34,1±0,5	24,7±0,5	30,1±0,7	27,3±0,9	27,1±0,8
aa - d	20	13,9±0,5	13,2±0,4	4,3±0,2	6,8±0,4	16,6±0,8	4,7±0,4
wv - aa	9	10,1±0,5	15,7±0,4	7,2±0,3	14,6±0,5	7,5±0,6	10,5±0,5

Полученные данные свидетельствуют, что частота рекомбинации является очень чувствительным показателем, который может быть сильно модифицирован объемом выборки, всхожестью семян и др. факторами. В то же время следует отметить, что частота рекомбинации между разными парами локусов может сильно варьировать в разных гибридных комбинациях. Так, между парами локусов wv - d и wv - aa выявленные частоты сходны с ожидаемой частотой rf исходя из расстояния по генетической карте и с контролем, в котором использовался сорт, использованный для получения трансгенных растений. С другой стороны, показатель частоты rf между парой локусов aa - d оказался значительно ниже ожидаемого, в т.ч. и в контрольном варианте. При этом частота рекомбинации в комбинации скрещивания с участием трансгенной формы с т-ДНК в хромосоме II. Изменения частоты rf могут быть обусловлены разными факторами, в т.ч. и влиянием Ds-элемента кукурузы.

#### **МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛЕВОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КАРТОФЕЛЯ К ФИТОФТОРОЗУ В УСЛОВИЯХ ЕСТЕСТВЕННОГО ИНФЕКЦИОННОГО ФОНА**

**С.А. Пастухов, И.А. Щербаков**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А.Тимирязева

Научные руководители – **А.Н. Смирнов**, к.б.н., доцент;

**В.С. Рубец**, к.б.н., доцент

Создание устойчивых к фитофторозу картофеля является одной из важнейших задач селекции картофеля. В настоящее время актуально получение высоких уровней горизонтальной

устойчивости. Селекция сортов картофеля на основе сверхчувствительности не принесла желаемых результатов, поскольку способность *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary образовывать новые физиологические расы сводит на нет все достижения по данному направлению. Горизонтальная устойчивость обусловлена комплексом различных механизмов: устойчивостью растений к проникновению инфекции в листья и клубни, подавлением роста *P. infestans* в тканях растения-хозяина, увеличением инкубационного периода болезни, подавлением споруляции возбудителя. Сумма этих механизмов определяет наблюдаемый уровень устойчивости сортов к фитофторозу в полевых условиях.

Важной задачей является оценка горизонтальной устойчивости у селекционных образцов. Для ее определения в основном используются лабораторные анализы, или инокуляция растений в инфекционном питомнике смесью определенных изолятов.

Эти методы имеют существенные ограничения:

1. Проводить профессиональную работу с чистыми культурами *P. infestans* может лишь ограниченное количество лабораторий.
2. В чистой культуре изоляты *P. infestans* могут менять свои свойства, следовательно, результаты лабораторных тестов трудно распространять на полевые условия. Применение этих изолятов при создании инфекционного фона искажает результаты.
3. В большинстве случаев лабораторные исследования и полевые наблюдения проводят обособленно друг от друга.

Применяются оценки устойчивости и на естественном инфекционном фоне. Обычно определяют интенсивность поражения (пораженная поверхность) растения фитофторозом. Результаты учитывают в баллах или в процентах. Шкалы и стандарты оценки, используемые фитопатологами и селекционерами, довольно сильно отличаются друг от друга.

Следует отметить, что для оценки устойчивости должна использоваться именно полевая популяция *P. infestans*. Именно при взаимодействии растения – хозяина с полевой популяцией патогена (состоящей из совокупности его штаммов на определенном поле или делянке) определяется его полевая устойчивость.

Агрессивность *P. infestans* проявляется в длительности инкубационного и латентного периодов, проценте поражения растений-хозяев (частота инфекции), интенсивности развития патогена в тканях растений-хозяев (размер некрозов), и интенсивности спороношения. При развитии патогена на растении с высокой полевой устойчивостью все эти показатели снижаются, а на восприимчивом – повышаются. Таким образом, полевая устойчивость растения-хозяина и агрессивность патогена обратно пропорциональны.

Визуальная оценка степени поражения в данном случае недостаточна, поскольку визуально сложно отличить высокую горизонтальную устойчивость от вертикальной по наличию инфекционных пятен. Развитие болезни может происходить неравномерно по питомнику, кроме того, её распространение зависит от погодных условий. Заражение происходит только при влажной погоде, а развитие патогена на растении может проходить и в засушливых условиях, что искажает результаты наблюдений.

Для определения полевой устойчивости к *P. infestans* необходимо совмещать методы лабораторных исследований с проведением полевых учетов. Только такой подход позволит получить более объективную картину. Без определения стратегий размножения патогена, интенсивности спороношения, сложно получить реальное представление о полевой устойчивости.

В настоящей работе мы испытали новый метод оценки полевой устойчивости к фитофторозу на основе определения стратегий размножения и жизнеспособности *P. infestans* на селекционных образцах (Смирнов, Кузнецов, 2006). В основе метода лежит единовременное определение встречаемости ооспор и зооспорангиев в тканях картофеля, пораженных фитофторозом. Также используются результаты полевых наблюдений.

Для оценки частоты встречаемости ооспор и зооспорангиев в полевых популяциях *P. infestans* мы использовали индексы встречаемости ооспор (ИО) и зооспорангиев (ИЗ). Для определения индекса агрессивности полевой популяции (ИА) используются индекс ИЗ, а также показатели полевых учетов – распространенность и интенсивность (индекс развития) болезни.

Измерение интенсивности спороношения позволяет характеризовать способность патогена развиваться на растении, и является важным дополнением визуальных оценок.

Интенсивность образования ооспор является фактором, определяющим накопление и длительность сохранения инфекции, поэтому ИО можно рассматривать как показатель обратный

способности растения противостоять накоплению первичной инфекции.

На основе результатов визуальных оценок определяется распространенность болезни **РБ** (частота инфекции) и индекс развития болезни **ИБ** (размер некрозов). Они определяются по формулам:

$P = n / N \cdot 100\%$ ;  $I = \sum(a_i b_i) / 5N$ , где  $n$  – число больных растений,  $a_i b_i$  – сумма произведений числа больных растений ( $a_i$ ) на соответствующий им балл поражения ( $b_i$ ) по пятибалльной шкале;  $n$  – число здоровых растений (балл – 0);  $N$  – общее число больных и здоровых растений.

Чтобы оценить встречаемость ооспор и зооспорангиев в полевой популяции *P. infestans*, подсчитывают, сколько образцов имеют редкую, умеренную и частую встречаемость ооспор и зооспорангиев. Далее подсчитывают индексы встречаемости зооспорангиев (ИЗ) и ооспор (ИО) в полевой популяции по формулам: где РС – частота встречаемости образцов с редкими зооспорангиями, %; УС – частота встречаемости образцов с умеренным образованием зооспорангиев, %; ЧС – частота встречаемости образцов с частыми зооспорангиями, %;

$IЗ = 0,05 РС + 0,5 УС + ЧС$ , соответственно определяется встречаемость ооспор:

$$ИО = 0,05 РО + 0,5 УО + ЧО.$$

Индекс агрессивности (ИА) полевой популяции *P. infestans* можно подсчитать так:

$$ИА = (P \times I \times ИЗ) / 10\,000$$

Индекс агрессивности, являясь комплексным показателем, позволяет более точно оценить полевую устойчивость растения-хозяина. Для этого нами предложен индекс устойчивости (резистентности)  $ИР = (1/ИА) \cdot 100\%$ .

При испытании данного метода мы использовали потомства от самоопыления перспективных урожайных сортов Удача и Чародей, характеризующихся высокой и средней полевой устойчивостью к фитофторозу соответственно. Измерялись средние значения индексов по каждому потомству (табл. 1).

Таблица 1

Результаты изучения устойчивости потомств от самоопыления  
сортов Удача и Чародей к *P. infestans* по лабораторно-полевому  
методу

Потомство, сорта	Число проб, шт.	% проб без ооспор	ИЗ	ИО	РБ, %	ИБ	ИА	ИР	Сред ний балл по шка ле ВИР
Удача	11	90.9	38.6	4.4	76.0	27.6	8.1	12.3	7.4
Чародей	10	60.0	50.0	12.0	92.9	57.8	26.9	3.8	4.8

Популяция патогена на потомстве сорта Удача слабо агрессивна. Зооспорангии образуются умеренно, оспоры - редко. На потомстве же сорта Чародей патоген проявил высокую агрессивность, довольно частое образование спорангиев и умеренное образование ооспор.

#### Выводы

1. Применение метода позволило быстро и эффективно, без значительных затрат получать емкие результаты, полезные для селекционной работы.
2. Испытанный нами лабораторно-полевой метод не противоречит стандартной методике, а существенно дополняет ее.
3. Применение и лабораторного опыта и обычных полевых тестов показало, что средняя полевая устойчивость потомства сорта Удача была выше, чем у потомства сорта Чародей.

#### Список литературы

Смирнов А. Н., Кузнецов С. А. Определение стратегий размножения и жизнеспособности полевых популяций *Phytophthora infestans* // Известия ТСХА. – 2006. – Вып. 4. – С. 28-41.

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕИЗВЕСТНОГО ТИПА ЦМС У КАПУСТЫ ПЕКИНСКОЙ *BRASSICA PEKINENSIS*

**Ю.В. Плахова**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А.Тимирязева

Научный руководитель – **Г.И. Карлов**, к. б. н.

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) растений широко используется в сельском хозяйстве при производстве гибридных семян. Она позволяет устранить затраты, связанные с ручной кастрацией, и тем самым снизить себестоимость семян. Растения с ЦМС образуют стерильную пыльцу, которая не способна к оплодотворению. Это явление известно у многих сельскохозяйственных культур, но на практике чаще всего используется у перекрёстноопыляемых культур, в том числе и у видов семейства *Brassica* (рапс, капуста белокочанная, капуста пекинская и другие).

У видов семейства *Brassica* встречается несколько типов ЦМС: *ogura*, *rolima*, *rap*, *nig*, *mur* и *ana*. Наиболее распространёнными являются первые три типа. Каждый тип ЦМС детерминирован определёнными генами стерильности, которые, в свою очередь, представляют собой специфические последовательности нуклеотидов в митохондриальном геноме. Для ЦМС *ogura* характерна последовательность *orf138*, для *rolima* – *orf224*, для *rap* – *orf222/nad5c/orf139*. Как правило, данные последовательности находятся в непосредственной близости от гена *atp6*, кодирующего шестую субъединицу фермента АТФазы, участвующего в синтезе АТФ из АДФ и фосфорной кислоты (процесс фосфорилирования). У стерильных растений *orf* транскрибируются вместе с геном *atp6*, в результате чего транслируется совершенно иной белок с изменённой аминокислотной последовательностью и, следовательно, не способный выполнять свою прежнюю функцию. В связи с этим нарушается целостность АТФазы, фосфорилирование прекращается, клетка остаётся без АТФ, то есть без энергии, которая крайне необходима для нормального развития пыльцы. В итоге растения становятся стерильными.

На селекционной станции имени Н.Н. Тимофеева был проведён ряд последовательных межвидовых скрещиваний капусты пекинской *Brassica pekinensis* с турнепсом *Brassica rapa* и

капустой (горчицей) абиссинской *Brassica carinata* с целью передачи капусте пекинской генов устойчивости к киле и сосудистому бактериозу. В результате скрещивания в потомстве было обнаружено одно стерильное растение с неизвестным типом ЦМС, хотя материнское и отцовское растения были фертильными.

Для определения неизвестного типа ЦМС у капусты пекинской были проведены ПЦР-анализ и секвенирование ПЦР-продуктов. Одновременно проводилась ПЦР-диагностика стерильных растений капусты белокочанной, капусты цветной, рапса и редиса, имеющих огуга тип ЦМС, с целью проверки работы праймеров, взятых из литературных источников. Некоторые праймеры, специфичные для ЦМС огуга, работали не на всех растениях, имеющих этот тип стерильности.

ПЦР-анализ растения с неизвестной стерильностью показал, что оно имеет огуга тип ЦМС. Секвенирование продуктов ПЦР также подтвердило, что растение имеет тип ЦМС огуга в связи с тем, что его митохондриальный геном содержит последовательность, абсолютно идентичную *orf138*.

Таким образом, появление стерильного растения в гибридной популяции от скрещивания двух фертильных линий можно объяснить спонтанной мутацией, приведшей к возникновению ЦМС огуга типа.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОВ ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* L., УСТОЙЧИВЫХ К ФИТОПАТОГЕНАМ**

**М.Н. Полякова**

Институт Общей Генетики им. Н.И.Вавилова РАН  
Научный руководитель – **Н.В. Хадеева**, к. б. н., ст. н. с.

Одной из важнейших задач современной селекции растений является повышение устойчивости ценных сельскохозяйственных культур к фитопатогенам и вредителям. Часто химические средства защиты в таких случаях бессильны, а использование больших доз пестицидов ухудшает экологическую обстановку. В данном случае на первый план выходит такой метод борьбы, как создание новых устойчивых сортов. Донорами признаков устойчивости могут быть дикие виды, а также трансгенные формы, которые можно использовать в качестве

исходного материала для селекции растений. Особое внимание привлекают растительные гены ингибиторов протеолитических ферментов в качестве доноров признака устойчивости. Было показано, что перенос таких генов из одних видов растений в другие приводит к проявлению у последних свойств устойчивости к насекомым и некоторым патогенам.

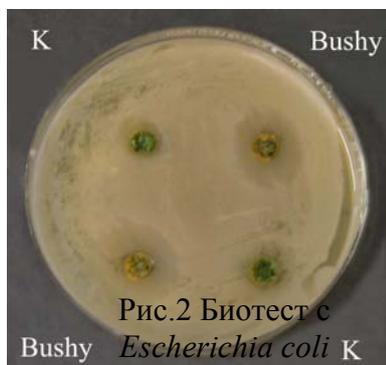


На протяжении 50 лет *A.thaliana* является классическим объектом для проведения различного рода исследований. Этот маленький сорняк относится к семейству крестоцветных, как рапс, капуста и другие виды хозяйственно-ценных культур. Особенности организации генома арабидопсиса делают его наиболее удобным объектом среди высших растений для проведения молекулярно-генетических, эмбриологических и других исследований. Его геном представлен, в основном, уникальными последовательностями, поэтому любая вставка чужеродной ДНК может вызвать мутацию. Таким образом, можно получить целый спектр инсерционных мутантов.

Целью данного исследования являлось получение трансформированных растений *Arabidopsis thaliana* L., отбор и характеристика трансгенных растений. В качестве объекта использовали растения арабидопсиса расы *Columbia*. Для трансформации использовали два штамма агробактерий: штамм *Agrobacterium tumefaciens* A281, а также штамм A281 IP, несущий целевой синтетический ген ингибитора сериновых протеиназ IP гречихи, полученный в лаборатории М.А.Белозерского (Институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского).

В задачи исследования входили: оптимизация метода трансформации арабидопсиса и получение инсерционных мутантов, оценка спектра морфологических мутаций полученной коллекции трансгенных растений арабидопсиса, а также изучение антибактериальной активности тканей трансгенных растений по отношению к модельным и фитопатогенным бактериям (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas syringae*, *Clavibacter michiganensis*).

Трансформации подвергали набухшие, поврежденные порошком вольфрама семена, а также трех- и семидневные проростки. Часть трансформированных семян и проростков высаживали в почву, остальные выращивали в асептических условиях. Среди трансформированных растений и их потомства был проведен отбор морфологических мутантов, а также анализ на устойчивость к канамицину.



Показано, что лучшей жизнеспособностью после трансформации обладали растения, инокулированные штаммами агробактерии на стадиях трехдневных и семидневных проростков.

Большинство полученных трансформированных растений арабидопсиса имели различные нарушения морфологии, отставание в росте, многие из них не были способны к

образованию цветоноса, так и оставаясь на стадии розетки листьев. Также были обнаружены различия в степени опушения органов растений. Одно из растений обладало нарушенным апикальным доминированием (мутант «Bushy»), в результате, в пазухе каждого листа образовывался новый побег, оно обильно цвело, но не давало семян (Рис.1). Кроме того, это растение имело гофрированные листья. Его удалось сохранить в стерильных условиях и размножить вегетативно. Помимо этого, встречались растения, имеющие антоциановую пигментацию. Обнаружен также один мутант, у которого вместо цветков развивались нераскрывающиеся бутонообразные образования белого и зеленого цветов.

Для изучения устойчивости к бактериальным патогенам полученных трансформированных растений были проведены биотесты. В чашках Петри, предварительно засеянных бактериальной культурой, делали лунки. В них помещали растертые в стерильных условиях листья и стебли контрольных и трансформированных растений и инкубировали при комнатной температуре. Результаты теста оценивали через 24-48 часов. Было установлено, что полученные трансгенные растения, в отличие от контрольных, оказывали ингибирующее действие на рост некоторых бактерий (рис.2). По-видимому, они производят

функциональные белки, оказывающие защитное действие и подавляющие развитие бактерий. Однако разные трансформированные растения обнаружили различную степень устойчивости к разным бактериальным патогенам. Например, 10 растений, трансформированных штаммом агробактерии с целевым геном IP, подавляли рост *Clavibacter michiganensis* и не оказывали влияния на *Escherichia coli*. С другой стороны, гомогенаты тканей мутанта «Bushy» подавляли рост *Escherichia coli* и *Pseudomonas syringae*, но не влияли на рост *Clavibacter*.

Таким образом, в ходе работы были получены инсерционные мутанты арабидопсиса с повышенной устойчивостью к ряду фитопатогенных бактерий. Свойства устойчивости обусловлены экспрессией гена ингибитора протеолитических ферментов из гречихи.

## **ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА СТЕПЕНЬ РАССЕЧЕННОСТИ ЛИСТА У НЕКОТОРЫХ МУТАНТНЫХ ФОРМ ТОМАТА**

**К.Е. Селяскин**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научный руководитель – **А.А.Соловьёв**, к.б.н., доцент

Томат является прекрасным модельным объектом для изучения многих биологических процессов, происходящих в растениях. Наличие наиболее большого разнообразия вариантов типа листа позволяет использовать эту культуру для изучения генетического развития листа.

Форма листа у томата зависит не только от действия одного конкретного гена. Для изучения влияния генетических факторов, влияющих на морфогенез листа, удобно использовать мутантные формы томатов, т.к. они хорошо изучены, для них составлены генетические карты и их количество и разнообразие форм велико.

Формирование листа томата может контролироваться двумя различными генетическими программами, приводящими к появлению или цельнокрайнего, или рассеченного листа (Sharon Kessler и Neelima Sinha, 2001). Образование простого или сложного листа определяется взаимодействием между апикальным ростом, формированием боковых меристем и активацией

рассеянных меристем, отвечающих за рост листовой пластинки. Благодаря задержке активации рассеянных меристем и росту апекса примордия, который ингибирует формирование боковых меристем, развивается простой лист (мутация *Lanceolate*), представляющий собой одну разросшуюся верхушечную долю. В том случае, когда апикальная меристема перестает расти, то за счет боковых меристем образуются доли, и лист становится сложным (дикий тип). Для развития дополнительной расчлененности листа (как у мутаций *Mouse ears*, *Petroselinum*, *clausa*) требуется повторение формирования вторичных боковых меристем примордиев прежде, чем начнется развитие листовой пластинки.

В настоящее время у культурного томата (*Solanum lycopersicum* или *Lycopersicon esculentum*) получено более 315 мутаций (TGRC, 2005), затрагивающих развитие листа, причем мутации могут, как увеличивать, так и уменьшать степень его расчлененности относительно дикого типа.

Всё многообразие этих мутаций по характеру их влияния на фенотип растения на четыре большие группы.

- К первой группе относятся мутации, при которых листовая пластинка почти не развивается, или она редуцирована до центральной жилки. Примерами таких мутаций являются *wiry*, *wiry-4*, *wiry-6*.

- Листья растений второй группы цельнокрайние, иногда слабо рассеченные, и состоящие из одной доли. К ним относятся мутации *Lanceolate* и *entire*.

- Растения третьей группы имеют небольшое количество сегментов листа, кроме того, эти сегменты часто цельнокрайние или слаборассеченные. Это наиболее многочисленная группа, сюда относятся гены *solanifolia*, *potato leaf*, *tripinnate*, *trifoliolate*, *procera*, *polycot*, *splendens* и другие.

- В четвертую группу объединены мутации, приводящие к развитию сверхсложного листа, состоящего из десятков и сотен сегментов. Это мутации *Mouse ears*, *Petroselinum*, *clausa*, *bipinnate* (Sinha N, 2001).

При изучении генетического контроля типа листа важное значение имеет не только влияние одного гена, но и характер взаимодействия между генами, определяющими разные типы листа.

Целью данной работы являлось изучение взаимодействия генов, отвечающих за различные типы листа, имеющих наиболее четко выраженное фенотипическое проявление. Работа проводится

на кафедре генетики РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Исходным материалом служили мутантные формы томата из коллекций кафедры генетики РГАУ-МСХА и Центра генетических ресурсов томата (TGRC, США).

В 6 комбинациях скрещиваний проведен анализ расщепления  $F_2$ , из которого можно сделать следующие выводы:

1. В результате проведенного генетического анализа, показаны различные взаимодействия генов, контролирующих развитие листа томата.

2. У гибридов второго поколения в комбинациях скрещиваний (*procera*) × (*potato leaf*) и (*entire*) × (*potato leaf*) отмечено взаимодействие генов, ответственных за форму листа по типу рецессивного эпистаза.

3. В комбинации скрещивания (*entire*) × (*polycot*) в  $F_2$  были выявлены новые по сравнению с родительскими формами типы листа, являющиеся промежуточными при взаимодействии исходных генов.

## **ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА РЕДЬКИ ПОСЕВНОЙ (*RAPHANUS SATIVUS* L.) В КУЛЬТУРЕ IN VITRO**

**Ю.С. Спивак**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научный руководитель - **О.Ю. Миронова**, к.б.н., доцент

Важное место среди овощных культур занимает редька. Большое ее хозяйственное значение обусловлено высокой пищевой ценностью, лечебными свойствами, стабильной урожайностью и хорошей лежкостью.

Целью данной работы являлось изучение морфогенетического потенциала редьки посевной в условиях *in vitro*.

В работе придерживались принятых на кафедре с/х биотехнологии методик приготовления и стерилизации питательных сред, инструментов и оборудования, изложенных в практикуме «Лабораторно-практические занятия по сельскохозяйственной биотехнологии» (1996, 2004).

Объектами исследований служили первичные экспланты (сегменты листовых пластинок, гипокотели, корневая система,

апикальная меристема) редьки посевной 4 сортов (Маргеланская, зимняя черная, Красная, Китайская), полученные из пророщенных семян.

Семена стерилизовали 0,1% раствором сулемы с подбором оптимального времени обеззараживания и многократным промыванием стерильной дистиллированной водой. Оптимальное время стерилизации семян составило 10 мин. Далее семена помещали в культуральные сосуды для проращивания. 7-дневные проростки редьки были использованы для получения первичных эксплантов, которые помещали на питательные среды на основе среды Мурасиге-Скуга (1962) с добавлением сахарозы и агара. В качестве регуляторов роста в исследованиях использовали БАП, кинетин, ИУК, НУК, 2,4-Д в различных концентрациях и комбинациях.

В ходе исследований установлено, что листовые экспланты обладают высокой способностью к ризогенезу, образуя развитую корневую систему. На семядольных сегментах была получена прямая регенерация с формированием микропобегов в количестве 6-10 единиц на эксплант. Экспланты из черешков образуют каллусные ткани от 15 до 30 дней в зависимости от состава питательной среды и концентрации сахарозы. При культивировании микропобегов редьки около 25-30 дней были получены микрокорнеплоды, которые в дальнейшем будут адаптированы к почвенным условиям.

## **ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ПАРАМЕТРОВ АНАТОМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ КОЛОСОВОГО СТЕРЖНЯ С ЭЛЕМЕНТАМИ ПРОДУКТИВНОСТИ КОЛОСА ТРИТИКАЛЕ**

**Е.В. Тихонова**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научные руководители - **В.С. Рубец**, к.б.н., доцент;

**Е.А. Комарова**, аспирант

Актуальность. Анализ взаимосвязи анатомических признаков, а также их связь с продуктивностью растений обеспечивает разработку объективных критериев для селекции (Лазаревич, 1999).

Ранее проводились исследования структуры стебля тритикале в связи с устойчивостью к полеганию (Орехова, 1981; Суязова, 1982; Гаврилова, Мишкина, 1985), а также с целью установления устойчивости анатомических показателей стебля различных по генотипу амфидиплоидов (Лапытов, Алексеева, 1990). Связь же анатомических показателей колосового стержня с продуктивностью колоса практически не исследована.

Цель: выявление связи параметров анатомического строения колосового стержня с элементами продуктивности колоса.

Методика. Эксперимент проводился на полях селекционной станции РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева в течение 2005 – 2006 гг. Для анализа были использованы 10 сортов гексаплоидной озимой тритикале (Виктор, Никлап, Кентавр, Гармония, АДМ-9, Водолей, Стрельна 11, 21406/96, Талисман, Антей), различающихся по продуктивности главного колоса. Посевы разместили на поле систематически, в трехкратной повторности. В фазу цветения на каждой делянке были отмечены 3 морфологически сходные пары растений. Половину из них (по одному из каждой пары, итого по 9 из каждого сорта) срезали в эту же фазу и колосья фиксировали для дальнейшего проведения анатомического анализа. Остальные отмеченные контрольные растения в фазу полного созревания использовали для анализа структуры продуктивности главного колоса.

Для анатомического анализа на ручном микротоме получали тонкие поперечные срезы колосового стержня зафиксированных колосьев в районе между уступами 7 и 8 колосков. Затем проводилось окрашивание срезов и изготовление временных препаратов (Барыкина, 2004). С помощью окуляра – микрометра измеряли радиальный и тангентальный диаметры проводящих пучков, радиальный и тангентальный диаметры флоэмы проводящих пучков, а также продольный и поперечный диаметры среза колосового стержня. На основе данных измерений вычислялись остальные анатомические показатели (таблица).

Результаты. Среди исследуемых сортов Никлап существенно превысил остальные по общему числу колосков в колосе (34,3). Сорт Виктор имеет максимальные число и массу зерен в колосе (61,1 и 2,5 г). Никлап по этим показателям уступает Виктору (55,2 и 2,5 г). Хорошо озерненный колос образует сорт Гармония (51,1 зерен массой 2,61г) при сравнительно невысоком числе колосков (26,4). Сорта Кентавр, 21406/96, Водолей и Антей оказались низкопродуктивными.

Наиболее развитой проводящей системой характеризуются сорта Никлап, Гармония, АДМ–9 и Виктор, а наименее развитой – Кентавр, 21406/96 и Водолей.

Между параметрами анатомического строения колосового стержня и элементами продуктивности главного колоса были найдены коэффициенты корреляции. Тесная связь наблюдается между общим числом колосков в колосе и числом проводящих пучков ( $r=0,85$ ), суммой их тангентальных диаметров ( $r=0,88$ ), суммой тангентальных диаметров флоэмы ( $r=0,77$ ), общей площадью флоэмы ( $r=0,84$ ), продольным диаметром среза ( $r=0,84$ ); а также между числом зерен в колосе и числом проводящих пучков ( $r=0,68$ ), суммой тангентальных диаметров проводящих пучков ( $r=0,69$ ), общей площадью проводящих пучков ( $r=0,64$ ), продольным диаметром среза ( $r=0,69$ ); кроме того, между массой зерен в колосе и суммой тангентальных диаметров проводящих пучков ( $r=0,7$ ), поперечным диаметром среза ( $r=0,71$ ).

Таблица

Сорт	Число проводящих пучков	Сумма тангентальных диаметров проводящих пучков, мм	Общая площадь проводящих пучков, мм	Сумма тангентальных диаметров флоэмы, мм	Общая площадь флоэмы, мм	Продольный диаметр среза, мм	Поперечный диаметр среза, мм
Виктор	18,0	1,79	0,163	0,85	0,026	0,79	2,18
Никлап	22,0	2,18	0,218	1,09	0,034	0,81	2,11
Кентавр	14,6	1,41	0,127	0,74	0,024	0,71	2,08
Гармония	19,8	1,88	0,168	0,96	0,026	0,77	2,28
АДМ-9	18,1	1,80	0,164	0,99	0,029	0,75	2,13
Водлей	15,8	1,53	0,134	0,82	0,022	0,68	1,94
Стрельна 11	17,5	1,73	0,156	0,81	0,023	0,68	2,0
21406/96	14,0	1,42	0,134	0,68	0,023	0,67	1,93
Талисман	16,9	1,66	0,147	0,82	0,023	0,7	2,01
Антей	17,5	1,60	0,143	0,84	0,024	0,75	2,03
<b>НСР 05</b>	<b>1,9</b>	<b>0,18</b>	<b>0,022</b>	<b>0,13</b>	<b>0,004</b>	<b>0,07</b>	<b>0,11</b>

Таким образом, при оценке исходного материала тритикале на продуктивность можно рассматривать некоторые параметры анатомического строения колосового стержня, поскольку наблюдается их тесная связь с элементами продуктивности колоса.

## **ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ МИКРОКЛОНАЛЬНО РАЗМНОЖЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ДЛЯ РАЗМНОЖЕНИЯ В ПОЛЕ**

**Н.Ю. Торпилова**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А.Тимирязева

Научный руководитель – **А.А.Соловьёв**, к.б.н., доцент

Для поддержания и совершенствования сортовых ресурсов картофеля требуется правильный подбор высокопродуктивных сортов для каждого региона возделывания этой культуры. Высока потребность в сортах картофеля со стабильной урожайностью за счет устойчивости к стрессовым факторам среды и наиболее распространенным и вредоносным патогенам (Анисимов, 2000). Выращивание высококачественного семенного материала картофеля требует проведения и соблюдения комплекса специальных агроприемов (Гордеева, 2001). Одним из таких агроприемов, позволяющих получать высококачественный посадочный материал картофеля, является получение оздоровленного путем введения меристем в культуру *in vitro* материала и его микроклональное размножение. Такие технологии предполагают выращивание микрорастений в условиях теплиц, что повышает себестоимость получаемого материала и удлиняет срок до получения семенной репродукции. В связи с этим целью эксперимента являлась оптимизация технологии выращивания микроклонально размноженных растений картофеля путем высадки их в поле. В качестве основных показателей эффективности этой методики использовали урожайность микрорастений и приживаемость их в полевых условиях.

Известно, что высадка пробирочных растений в полевые условия приводит к высокому выпадению растений (до 71%). По нашей технологии получены следующие результаты: процент выпада составил на сорте Луговской – 20%, Удача – 15%, Чародей – 17%, Жуковский ранний – 8%. Из полученных данных, что сорта отличаются по приживаемости в полевых условиях.

В 2006 г. урожайность при густоте стояния 25 тыс. растений на га составила: у сорта Луговской – 126,8 ц/га, у сорта Удача – 111,2 ц/га, у сорта Чародей – 211,5 ц/га, у сорта Жуковский ранний – 195,4 ц/га.

Из всего выше сказанного можно сделать следующие выводы. Данная модификация технологии получения оздоровленного материала картофеля позволяет получать высокий урожай микроклубней с микрорастений, высаженных в полевые условия. Наиболее подходящими для такой технологии на основании данных, полученных в 2006 г., являются сорта Чародей и Жуковский ранний.

## **ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ И СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА КЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ СОРТОВ *SYRINGA VULGARIS***

**Л.Л. Уткина**

Главный Ботанический Сад имени Н. В. Цицына РАН  
Научный руководитель – **Молканова О.И.**, к. с.-х. н.

Культурные формы сирени традиционно размножают черенкованием, отводками, корневыми отпрысками, прививкой. Но эти технологии не позволяют получать большого числа растений в течение года (5-100 растений). При семенном размножении сорта сирени расщепляются и дают неоднородное потомство, непригодное для использования в декоративных целях. По сравнению с данными технологиями микроклональное размножение имеет значительно больший коэффициент размножения (до  $10^5$ - $10^6$  мериклонов в год); позволяет размножать растения, которые плохо размножаются обычными способами; при этом сохраняются все признаки исходного растения. Кроме этого, работы можно проводить в течение всего года, а сроки получения посадочного материала сокращаются.

Цель данной работы заключается в изучении влияния гормонального состава питательной среды на высоту и число междоузлий микропобегов сирени обыкновенной. Эти показатели необходимы для дальнейшего расчета коэффициента размножения.

В эксперимент были включены следующие сорта сирени обыкновенной: Экселлент, Моник Лемуан, Прим Роз, Сенсация и Мадам Казимир Перье.

В качестве первичного экспланта были взяты верхушечные и боковые почки, а также фрагменты стебля с 1-2 почками. Стерилизация проводилась в 0,5%-ом растворе гипохлорита натрия с обработкой 70%-ным этанолом. Экспланты культивировались в течение 40-50 дней при температуре 21-23°C, освещении 1800 лк и 16-часовом световом периоде.

За основу питательной среды взята среда Мурасиге-Скуга (MS). Для изучения влияния гормонального состава добавляли цитокинин БАП в концентрации 0,5-3 мг/л или 2iP в концентрации 2-3 мг/л. Эти гормоны использовались индивидуально или в сочетании с ИУК в концентрации 0,3 мг/л.

В результате проведенных экспериментов было показано, что количество междоузлий незначительно зависит от состава питательной среды и, скорее всего, определяется генетическими особенностями сортов. Высота растений в большей степени определяется условиями культивирования. Для сортов Экселлент, Моник Лемуан и Сенсация определены среды, на которых высота растений достоверно больше, чем на других (для сорта Экселлент – это среда состава MS+3,0 мг/л 2iP+0,3 мг/л ИУК; для сорта Моник Лемуан - MS+3,0 мг/л БАП+0,3 мг/л ИУК; для сорта Сенсация – MS+0,5 мг/л БАП +0,3 мг/л ИУК). При этом для сортов Экселлент и Моник Лемуан при определенных концентрациях цитокининов наблюдается кумулятивное действие цитокинина и ауксина.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРУНТОВОГО КОНТРОЛЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОДЛИННОСТИ И ЧИСТОТЫ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ**

**Е.А. Фадеева**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А.Тимирязева

Научные руководитель – **А.Н.Березкин**, д.б.н., профессор;

**Л.Л. Березкина**, в.н.с.

Закон «О семеноводстве» устанавливает правовую основу деятельности по производству, заготовке, обработке, хранению и другому использованию семян сельскохозяйственных культур, а также по организации их семеноводства и сортового контроля. Вопрос о контроле сортовой чистоты семенного материала является актуальным.

Основная гарантия качества семенного материала - создание отраслевой системы сертификации семян.

Важнейшим элементом сертификации, как это предусмотрено международными нормами, должно быть проведение грунтового контроля, что позволит повысить ответственность производителей за качество семян

Для проведения сортового контроля используются следующие методы: лабораторный анализ, апробация, грунт-контроль.

Грунт-контроль – метод проверки подлинности и чистоты сорта на различных этапах его размножения. Грунтовой контроль используется для подтверждения того, что свойства и признаки сорта остались неизменными в процессе воспроизводства семян.

Цель работы – проверка подлинности и чистоты (отличимости, однородности и стабильности) выращенных в разных экологических условиях и на различных этапах размножения семян сортов ячменя Эльф в сравнении с оригинальными семенами этого сорта.

Материал и методика. Для работы были взяты семена сорта Эльф, находящиеся на разных этапах размножения, полученные из различных районов Московской (7 образцов), Рязанской (2 образца), Тульской (3 образца) и Орловской (2 образца) областей. В качестве контроля использовали оригинальные семена этого сорта, полученные из НИИСХ ЦРНЗ.

Для оценки отличимости, однородности и стабильности (ООС) изучаемых образцов ячменя используется методика по испытанию селекционных достижений на ООС по UPOV- форма RTG 19-1.

Анализ однородности, отличимости, стабильности семенного материала сорта Эльф показал, что:

1. По мере размножения семян сорта Эльф возрастает размах изменчивости степени выраженности изучаемых признаков как по всему растению, так и его частям (колос, зерно).

2. Возрастает степень изменчивости признаков у этого сорта по мере перехода от более высоких репродукций к менее высоким.

3. Некоторые образцы по степени выраженности ряда признаков были сильно засоренными. Это образцы № 2 и 5 из южного региона ЦРНЗ, а также № 13 и 14 из хозяйств Московской области.

4. –У партий ячменя не выявлено достоверных различий по урожайным свойствам между контрольным вариантом и остальными изученными образцами.

5. Изменение значений ряда признаков и их урожайных свойств у сорта Эльф говорит о влиянии на них как условий произрастания семян, так и условий внутрихозяйственного семеноводства.

## **СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ФОРМ ТРИТИКАЛЕ С КОМБИНИРОВАННЫМ КАРИОТИПОМ ПО ХРОМОСОМАМ 2R И 2D**

**Ю.В. Худякова**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К.А. Тимирязева

Научный руководитель – **А.А.Соловьёв**, к.б.н., доцент

Тритикале – новая зерновая культура, представляющая собой новый ботанический род. Она получена в результате скрещивания двух разных ботанических родов – пшеницы и ржи. Для тритикале имеется возможность проведения хромосомной инженерии, т.е. получения новых хромосомных вариантов. В коллекции кафедры генетики имеются формы с разной долей хромосом 2R и 2D – с замещением 2R/2D и транслокацией с участием этих хромосом. Создание гибридов между такими формами может позволить создать новые формы с разной долей хромосомы 2D в геноме тритикале, что может быть использовано в селекционно-генетических исследованиях и при картировании признаков тритикале. Известно, что хромосома 2D несет ряд ценных признаков, таких как высота растений, качество зерна и др.

Целью работы являлось получение форм тритикале, несущих в кариотипе пшенично-ржаные замещения и транслокации.

Задачи:

➤ Получение гибридов F<sub>1</sub> между линией 131/7 с пшенично-ржаной транслокацией и линиями к-1185, к-1186 с 2R/2D замещением хромосом.

➤ Оценка проявления признаков у полученных гибридов F<sub>1</sub>.

➤ Характеристика фертильности пыльцы у исходных форм и гибридов F<sub>1</sub>.

Результаты гибридизации представлены в табл. 1. Как видно из этой табл. отмечена низкая завязываемость гибридных семян как в прямых так и обратных комбинациях скрещиваний. Вероятно, это обусловлено наличием транслокации и замещения у скрещиваемых форм, несмотря на наличие гомологии между замещением и транслокацией.

Изучение гибридных растений F<sub>1</sub> показало, что эти растения характеризовались достаточно высокой фертильностью пыльцы. Этот показатель составил от 69 до 88%.

Таблица 1

#### Результаты гибридизации

Комбинация скрещивания	Опылено цветков, шт.	Завязалось зерен, шт.	Завязываемость, %
131/7 x K1185	803	50	9
131/7 x K1186	878	126	19
K1185 x 131/7	734	86	12
K1186 x 131/7	612	72	12

Для сравнения проявления признаков у гибридов F<sub>1</sub> между линией 131/7 и линиями к-1185, к-1186 использовали дисперсионный анализ. Проведенный анализ показал, что по изучаемым признакам (длина растения, продуктивная кустистость, длина главного колоса, число колосков в главном колосе, число зерен в главном колосе, масса зерен главного колоса, общее число зерен в растении, общая масса зерен в растении) между линиями и гибридами существенных различий нет.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ RAPD-АНАЛИЗА ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ И ИДЕНТИФИКАЦИИ СОРТОВ ОЗИМОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ

**Ю.С. Шишкина**

Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН

Научный руководитель - **В. А. Пухальский**, д.б.н., профессор

Филогения рода *Triticum* детально исследована с помощью морфологического, цитологического, иммунохимического и электрофоретического методов.

Для исследования изменчивости и организации генома растений в настоящее время применяются молекулярно-генетические маркеры.

Выявление молекулярных маркеров упрощает использование методов на полимеразной цепной реакции. Сейчас широко применяется амплификация ДНК с произвольными праймерами – RAPD-метод. С его помощью можно выявить полиморфизм генов в нескольких локусах. Полиморфизм появляется в результате различий в сайтах связывания праймера, а также в результате мутаций, таких как делеции и инсерции, и проявляется на электрофореграмме как отсутствие или присутствие фрагментов.

На пшенице как главном и важном объекте в генетике, можно проводить поиск молекулярных маркеров в идентификации сортов и разновидностей.

Целью исследования являлось изучить генетический полиморфизм сортов озимой твердой пшеницы, с помощью RAPD-анализа.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- Подбор оптимальных праймеров, позволяющих выявить полиморфизм у сортов;
- Оптимизация условий проведения полимеразной цепной реакции с произвольными праймерами;
- Проведение сравнительного анализа отдельных сортов;
- Определение возможности использования RAPD-анализа для установления различий между сортами озимой пшеницы;
- На основе полученных данных установление филогенетических связей между разными сортами.
- Проведение статистической обработки результатов с помощью ряда методов многомерной статистики и использования компьютерных программ.

RAPD-анализ полиморфизма проводили на 53 сортах пшеницы. Предварительно были выбраны условия реакции амплификации, включая подбор концентрации  $MgCl_2$ , ДНК, полимеразы, температуры отжига праймера, режима амплификации. Мы обнаружили, что все выбранные условия подходят для выявления полиморфизма и четкой картины с использованием выбранных праймеров.

Используемые сорта озимой и яровой твердой пшеницы в проведении RAPD-анализа:

1 -*T. turgidum* k-20777; 2 -*T. turgidum* k-52636; 3 - Немчиновская 52; 4 - Яровая мягкая 505; 5 - Жемчужина Дона; 6 - Валент-4; 7-Гордеиформе 2; 8 -Гордеиформе 5; 9 - Гордеиформе 5/5; 10 - Гордеиформе 7; 11 - Гордеиформе 8; 12 - Гордеиформе 8 Д-6; 13 - к-43706 Гордеиформе 9; 14 - Гордеиформе 12; 15 - Гордеиформе 13; 16 - Гордеиформе 14; 17 - Гордеиформе 16; 18 - Гордеиформе 17; 19 - Гордеиформе 31 Д-4; 20 - Гордеиформе 89; 21 - Гордеиформе - 91; 22 - Гордеиформе 92; 23 - Д-3 Гордеиформе 138/59; 24 - Д-6 Гордеиформе 455/5; 25 - Д-14 Египтянка 21; 26 - Д-12 Италикум 3; 27 - д-11 Италикум 30; 28 - Д-10 Леукурум 132; 29 - Д-9 Леукурум 193/62; 30 - Д-8 Леукурум 19; 31 - Д-18 Мичуринка; 32 - к-38441 Одесская 3; 33 - Д-16 Янтарная.

В работе были использованы три методики выделения тотальной ДНК из зародыша пшеницы. Применяли метод Нее van Kang включающий обработку протеиназой К, методику с использованием челекса и метод Дорохова Д. Б и Клока Э. с фенол-хлороформом. Причем предпочтительным оказался метод с дополнительной депротеинизацией смесью фенол/хлороформ.

Для проведения RAPD-анализа были использованы праймеры случайной природы, но ранее используемые для выявления полиморфизма растений рода *Triticum*. Праймеры: OPE-02, OPE-03, OPE-04, OPE-07, OPN-12, OPN-13, OPN-18, OPD-05, OPD-07, OPD-08, OPD-16, OPK-4, OPK-5, OPK-12, OPD-12, №33, №31, № 82, № 156, №177, №180, № 342, OPD-3.

Праймеры инициировали синтез наибольшего количество фрагментов у сортов. Число ампликонов было разное в зависимости от использованного праймера.

Сорта имели специфические RAPD-спектры различавшиеся размером, числом ампликонов, степенью выраженностью на электрофорелограмме. Наряду с наличием общих фрагментов выявлялись и другие, которые присутствовали в одних и отсутствовали в других. Эти фрагменты являлись маркерами исследуемой ДНК всех видов пшениц.

Для количественной оценки полиморфизма и уровня генетической дивергенции между исследуемыми сортами, полученные данные были представлены в виде матрицы состояний бинарных признаков, в которой наличие или отсутствие в спектрах одинаковых по размеру фрагментов кодировалось как 1 или 0.

Далее по матрице состояния были рассчитаны матрицы различий с помощью коэффициента Жаккарда.

Исходя из этой матрицы с помощью подходящих программ, таких как PHYLIP, MEGA, STATYSTICA, будут построены генеалогические дендрограммы отражающие степень различий в RAPD-спектрах исследуемых объектах.

## **RAPD-ИЗМЕНЧИВОСТЬ ДНК ЦИСТООБРАЗУЮЩИХ НЕМАТОД КАРТОФЕЛЯ *Globodera rostochiensis***

**Д.А. Харчевников<sup>1</sup>, И.В. Попов<sup>2</sup>, Г.Г. Хрисанфова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биологии гена РАН 117334, Москва, Вавилова ул., 34/5

<sup>2</sup>Институт паразитологии РАН 119071, Москва, Ленинский проспект, 33

### **1. ВВЕДЕНИЕ**

Молекулярно-генетические методы маркирования генома в настоящее время широко используются как в фундаментальных, структурно-функциональных и эволюционно-популяционных исследованиях, так и в решении прикладных задач медицины, ветеринарии и сельскохозяйственной биотехнологии. Особое место среди них занимают многочисленные варианты полимеразной цепной реакции (PCR), позволяющие вести поиск молекулярных маркеров и непосредственно маркировать отдельные последовательности или геномы в целом. Одним из наиболее распространенных методов изучения популяционного полиморфизма является ПЦР с набором случайных праймеров (RAPD-PCR).

Объектом данного исследования является золотистая цистообразующая картофельная нематода *Globodera rostochiensis* - облигатный паразит растений семейства *Solanaceae*, в том числе важнейших сельскохозяйственных культур: картофеля и томатов. Цель работы – выявление генетической изменчивости *Globodera rostochiensis* из трех популяций (Московская область, Владимирская область, Карелия) с помощью метода полимеразной цепной реакции со случайными праймерами (RAPD-PCR).

### **2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Зрелые цисты *Globodera rostochiensis* выделяли в 2004 г. из зараженной почвы Московской (n=6) и Владимирской (n=5)

областей и Республики Карелия (n=8) флотационным методом, собирали в пробирки и хранили при +4° С. ДНК выделяли при помощи набора реагентов DIAtom™ DNAprep 200 (IsoGene, Москва). Амплификацию с 7 десятичленными праймерами (P-29, OPA-9, OPA-10, OPT-14, OPA-11, OPB-11, OPH-20) проводили по стандартной методике на термоциклере «MJ Research» (США). Продукты амплификации подвергали электрофорезу в 1,5% агарозном геле и фотографировали в ультрафиолетовом свете на пленку «Микрат-300».

На основе полученных RAPD-спектров составлялись бинарные матрицы, на основе которых строили дендрограмму генетических различий (Nei and Lee 1979). Индекс бутстрепа рассчитывали на основе 1500 случайных реплик (TREECON for Windows, 1994).

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Использование каждого из 7 праймеров позволяло детектировать в каждой популяции у отдельных цист от 6 до 20 четких фрагментов ДНК размером от 150 до 2000 п.н.

По суммарному спектру, содержащему 1562 RAPD-фрагмента, карельская популяция оказалась более полиморфной по сравнению с двумя географически близкими популяциями. Доля полиморфных локусов в карельской популяции достигает 64,1%, а в московской и владимирской – 58,4% и 55,4% соответственно.

На дендрограмме (рис.1) три исходных популяции нематод образуют два кластера. В первый кластер вошли московская и владимирская популяции, во второй – карельская.

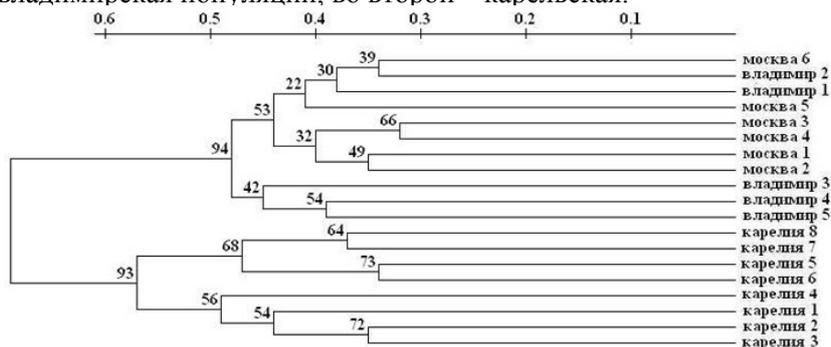


Рис. 1. Генетические различия между представителями трех популяций цистообразующих нематод *Globodera rostochiensis*.

Таким образом, предлагаемые маркеры позволяют дифференцировать изученные популяции на две группы в соответствии с их географической удаленностью. Нематоды из карельской популяции значительно отличаются от нематод из московской и владимирской областей, между которыми не обнаружено достоверных различий.

## **ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРИТИКАЛЕ – РЖАНЫХ ГИБРИДОВ**

**А.Н. Яцкевич**

Российский государственный аграрный университет – МСХА  
имени К. А. Тимирязева

Научные руководители – **М.Г. Дивашук**, ассистент,  
**А.А. Соловьев**, к.б.н., доцент

Скрещивание гексаплоидной тритикале с диплоидной рожью является наиболее эффективным методом получения тетраплоидных тритикале. Удобство тритикале этого уровня плоидности для цитогенетических исследований заключается в наличии у нее всего 28 хромосом. Такое количество хромосом позволяет лучше идентифицировать их.

Тетраплоидные тритикале чаще всего имеют геном ABRR. Ценность тетраплоидных форм тритикале заключается в удобстве их использования для получения замещенных линий пшеницы и тритикале. У этих форм тритикале в мейозе довольно часто наблюдается гомеологическая конъюгация хромосом, которая ведет к образованию между ними перестроек. Присутствие в геноме пшеницы или тритикале ржаных транслокаций или замещений придает этим культурам устойчивость к некоторым болезням, неблагоприятным условиям.

**Цель работы:** Целью работы было создание и изучение тритикале-ржаных гибридов для получения константных форм и использования их в селекционном процессе.

### **Задачи:**

- Провести скрещивания тритикале с рожью.
- Провести подсчет числа хромосом на метафазных пластинках гибридов.
- Изучить мейоз у гибридов, определить нарушения, возникающих в процессе деления, изучить влияние замещения у линии тритикале 131/7 на конъюгацию хромосом.

- Идентифицировать транслокацию с помощью микросателлитных маркеров и С-бэндинга. В качестве материала использовали линию яровой гексаплоидной тритикале 131/7, несущей транслокацию пшеничного плеча в хромосоме ржи, сорт яровой ржи Селенга и гибриды F<sub>1</sub> тритикале 131/7 x рожь Селенга.

От скрещивания гексаплоидной тритикале с диплоидной рожью в нашем исследовании была обнаружена высокая завязываемость гибридных семян, которая составила более 50%. Это явление повторилось в течение двух сезонов, что возможно обусловлено участием при создании этой линии тритикале сорта яровой ржи Селенга в качестве опылителя. Следует отметить и высокую жизнеспособность семян – около 70 %.

Цитологический анализ метафазных пластинок у тритикале-ржаных гибридов подтвердил гибридность семян, у которых имелось 28 хромосом. Цитогенетический анализ дифференциально окрашенных хромосом показал наличие в геноме гибридов двух геномов ржи RR, и геномов пшеницы A и B.

При проведении геномной гибридизации GISH была обнаружена транслокация пшеничной хромосомы в геноме ржи.



Рис. 1. Электрофорез ДНК по маркеру Xgwm 349, специфичному для хромосомы 2D. (1,2 – *T. aestivum* cv Иволга; 3 – 8х тритикале ПРАО-1; 4,5 – 6х тритикале 131/16-2.; 6,7 – *T. durum* cv Безенчукская.; 8,9 – *T. durum* f. IG-83775; 10,12 – F<sub>1</sub> 131/7 × Селенга; 13 – озимая рожь; 14,15 – *S. cereale* Селенга; 17,18 – СУ-35, 6х тритикале; 19,20 – К-1185, 6х тритикале; 21-26 – 131/7; 11,16,27 – маркер размеров).

Для идентификации транслокации на гибридах были проведен ПЦР-анализ на специфичные для хромосом D-генома маркеры. С использованием микросателлитного маркера Xgwm 349, специфичного для 2D хромосомы, показано присутствие участка этой хромосомы в геноме линии 131/7 (Рис. 1). Анализ результатов ПЦР показал, что данный фрагмент присутствует в формах, где имеется D-геном – это в мягкой пшеницы сорт Иволга, октаплоидной тритикале ПРАО-1, а также линии к-1185 гексаплоидной тритикале, несущей 2R/2D замещение (Соловьев, 2000). Маркеров, специфичных для других хромосом, у исследуемой линии не выявлено.

В то же время в формах, которые не имеют D-генома – *T.durum*, *S.cereale*, а также в полнокомплектной тритикале СУ-35, полоса, показывающая наличие участка хромосомы 2D в геноме отсутствует. Присутствие этой полосы у линии тритикале 131/7 и гибридов F<sub>1</sub> тритикале линия 131/7 × рожь сорт Селенга свидетельствует о наличии фрагмента длинного плеча хромосомы 2D.

Тритикале-ржаные гибриды развивались нормально, они имели мощный колос, прочный стебель, однако завязываемость зерен была очень низкая. От 200 растений было получено только 13 семян от самоопыления, несмотря на то, что фертильность пыльцы оказалась очень высокой – 34,19%. Высокая фертильность может быть обусловлена родством геномов R ржи и тритикале. В то же время, низкая завязываемость, возможно, связана с несовместимостью, характерной для ржи.

Исследование мейотического деления у гибридов F<sub>1</sub> показало наличие в метафазе I открытых и закрытых бивалентов, унивалентов. На некоторых пластинках были видны 14 унивалентов, 6 закрытых бивалентов и 1 открытый бивалент. Это объясняется конъюгацией гомологичных хромосом ржи, образующих закрытые биваленты, при этом одна пара хромосом ржи конъюгирует не полностью из-за транслокации в ржаной хромосоме линии 131/7, в результате формируется открытый бивалент. В других стадиях были отмечены следующие нарушения: в анафазе I и анафазе II – отставания хромосом; в метафазе II – отдельно лежащие хромосомы; в тетрадах - микроядра. Количество клеток без нарушений на стадии тетрад составляет лишь 1,6 %. Это свидетельствует о дисбалансе, который приводит к низкой завязываемости семян.

Таким образом, линия яровой тритикале 131/7 обладает высокой скрещиваемостью с яровой рожью Селенга, что вероятно обусловлено сходством геномов R этой линии и сорта ржи Селенга. Гибриды F<sub>1</sub> гексаплоидная тритикале × рожь могут быть использованы для лучшей идентификации хромосом.

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Крупин П.Ю.</b> Н.И. Вавилов в Петровке (1906-1917)	3
<b>Аксенова А.С.</b> наследование устойчивости к сосудистому бактериозу при передаче от абиссинской капусты ( <i>Brassica carinata</i> ) в пекинскую ( <i>Brassica pekinensis</i> )	5
<b>Алейникова А.Ю.</b> Особенности регуляции транскрипция генов в хлоропластных оперонах	7
<b>Александров О.С.</b> Цитогенетическая характеристика моносомно дополненных линий томата с различными хромосомами <i>Solanum lycopersicoides</i>	9
<b>Антонова В.В.</b> Генетический анализ наследования слаборассеченного типа листа томата	10
<b>Баженов М.С.</b> Сравнение пяти сортов гексаплоидной озимой тритикале по анатомическому строению стебля	11
<b>Балакина А.А.</b> Особенности клонального микроразмножения растений рода <i>Rosa</i>	14
<b>Батурин А.Л.</b> Определение толерантности к бурой ржавчине сортов мягкой яровой пшеницы по реакции на пинцировку колоса	16
<b>Гущин В.А., Корнеева В.А., Филиппенко Е.В.</b> Оптимизация методики электрофореза белков картофеля для различения сортов и линий	19
<b>Денькин М.В.</b> Современное состояние и перспективы развития семеноводства сельскохозяйственных культур в Рязанской области	21
<b>Емельянов А.В., Киров И.В.</b> Малые РНК в большой науке	23
<b>Климушина М.В.</b> Полиморфизм по спектрам запасных белков озимой пшеницы сорта Звезда и выведенных на ее основе линий Звезда низкостебельная и Звезда одностебельная	25
<b>Кравцов А.К.</b> Изучение молекулярных механизмов световой и гормональной регуляции деэтиолирования ячменя ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	27
<b>Лапин Д.Н.</b> Характеристика линий яровой тритикале с применением SSR-маркеров, специфичных для D-генома	29

<b>Нгуен Тхи Тху Линь</b> Реализация потенциальной продуктивности колоса тритикале	32
<b>Майер О.А.</b> Изучение коллекции трансгенного табака поколений T <sub>0</sub> И T <sub>1</sub>	34
<b>Майер Н.К.</b> Анализ влияния Ds-элемента на частоту рекомбинации у гибридов томата с участием трансгенных растений	37
<b>Пастухов С.А., Щербаков И.А.</b> Метод исследования полевой устойчивости картофеля к фитофторозу в условиях естественного инфекционного фона	38
<b>Плахова Ю.В.</b> Молекулярно-генетическая характеристика неизвестного типа ЦМС у капусты пекинской <i>Brassica pekinensis</i>	43
<b>Полякова М.Н.</b> Использование генов ингибиторов протеолитических ферментов для получения растений <i>Arabidopsis thaliana</i> L., устойчивых к фитопатогенам	44
<b>Селяскин К.Е.</b> Генетический анализ взаимодействия генов, отвечающих за степень рассеченности листа у некоторых мутантных форм томата	47
<b>Спивак Ю.С.</b> Изучение морфогенетического потенциала редьки посевной ( <i>Raphanus sativus</i> L.) в культуре in vitro	49
<b>Тихонова Е.В.</b> Изучение взаимосвязи параметров анатомического строения колосового стержня с элементами продуктивности колоса тритикале	50
<b>Торпилова Н.Ю.</b> Оптимизация условий выращивания микроклонально размноженных растений картофеля для размножения в поле	53
<b>Уткина Л.Л.</b> Влияние генетических особенностей и состава питательной среды на клональное размножение сортов <i>Syringa vulgaris</i>	54
<b>Фадеева Е.А.</b> Использование грунтового контроля для оценки подлинности и чистоты семян ячменя	55
<b>Худякова Ю.В.</b> Создание и изучение форм тритикале с комбинированным кариотипом по хромосомам 2R и 2D	57

<b>Шишкина Ю.С.</b> Использование RAPD-анализа для установления филогенетических связей и идентификации сортов озимой твердой пшеницы	58
<b>Харчевников Д.А.</b> RAPD-изменчивость ДНК цистообразующих нематод картофеля <i>Globodera rostochiensis</i>	61
<b>Яцкевич А.Н.</b> Цитогенетическая характеристика тритикале – ржаных гибридов	63