

Компонентный состав глиадины коллекции яровой тритикале (\times *Triticosecale* Wittm.)

А.В. Любимова, к.б.н., Э.Т. Ярова, магистрант, Д.И. Ерёмин, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья

Тритикале (\times *Triticosecale* Wittm.) – аллополиплоид, культура, полученная человеком от скрещивания пшеницы с рожью, сочетающая в себе их положительные качества. Яровая тритикале ценится за высокое содержание лизина в зерне и повышенную озернёность колоса. Она обладает иммунитетом к наиболее распространённым инфекциям и нетребовательна к условиям произрастания [1]. Поэтому площадь, засеваемая тритикале, постепенно увеличивается не только в России, но и во всём мире. На февраль 2016 г. в Госреестр селекционных достижений России был внесён 81 сорт тритикале, а уже к 2018 г. их количество составило 97. Растущая потребность в новых высокоурожайных сортах привела к необходимости ускорения селекционного процесса. Для этого наряду с традиционными методами селекции применяются методы маркирования генетических систем растений с помощью разнообразных полиморфных маркерных систем [2, 3]. Для анализа селекционного материала успешно используется метод электрофореза запасных спирторастворимых белков зерна – проламинов. На примере многих сельскохозяйственных культур показана возможность применения этого метода для оценки исходного материала, контроля над включением геномов, хромосом или особенностей генотипа исходных форм в создаваемые гибриды; идентификации образцов коллекций и оценки генетической дифференциации генофонда [4–6].

Исследование характера наследования проламинов тритикале показало, что в α -зоне наследуются пшеничные компоненты – глиадины, а компоненты секалинов ржи представлены в основном в β - и ω -зонах. В ω -зоне проламинов образцов тритикале, имеющих в своём составе 1R хромосому ржи, чётко выражен триплет ω 234, общий для всех представителей рода *Secale* и маркирующий вышеназванную хромосому [7]. Проламины тритикале применяются в качестве маркеров биотипов, наиболее адаптированных к определённым природно-климатическим условиям [8]. Для успешного применения белковых маркеров в селекции необходимо установить зависимость изменчивости компонентного состава проламинов от различных генетических особенностей культуры. Для этого важно на первом этапе провести полную оценку компонентного состава и уровня полиморфизма проламинов максимально возможного количества сортов.

Целью исследования была оценка генетической дифференциации образцов коллекции яровой тритикале, возделываемой в Тюменской области, по

компонентному составу глиадины для дальнейшего использования в маркер-опосредованной селекции при оценке исходного материала.

Материал и методы исследования. Материалом для исследования послужили сорта яровой тритикале, возделываемые на опытном поле ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья (табл. 1). Почва опытного поля – чернозём выщелоченный с характерными для Западной Сибири признаками и свойствами [9].

1. Исследованные сорта яровой тритикале

№ по каталогу ВИР	Сорт	Географическое происхождение
3887	Ульяна	Красноярский край
3872	Хлібодар харківський	Украина
3873	Соловей харківський	–/–
3890	Мыкола	–/–
3676	Скорый	Ленинградская обл.
3745	Скорый 2	–/–
3827	ПРАГ 505	Дагестан
3644	Укро	Воронежская обл.
3645	Дагво	–/–
–	Кармен	Владимирская обл.

Исследованные сорта приняты к внедрению кафедрой технологии производства, хранения и переработки продукции растениеводства ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья в 2010 г. из ФГБОУ ВО «Красноярский ГАУ».

Для одномерного электрофореза запасных спирторастворимых белков тритикале – глиадинов применяли стандартную методику [10]. От каждого сорта методом случайной выборки отбирали по 100 зёрен. Электрофорез проводили в вертикальных электрофоретических камерах с размерами формируемых пластин 178×175×1,5 мм (Helicon, Россия) при постоянном напряжении 500 V в течение 4,0–4,5 часа.

Для оценки степени генетической дифференциации сортов полученные данные о компонентном составе глиадины обрабатывали методом кластерного анализа. В качестве индекса подобия использовали коэффициент Dice:

$$S = \frac{2n_{ab}}{n_a + n_b},$$

где n_a и n_b – это число компонентов, присутствующих в спектрах А и В, соответственно;

n_{ab} – количество компонентов, общих для двух спектров.

Для кластеризации применялся метод попарного внутригруппового невзвешенного среднего (UPGMA – Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean). Построение дендрограммы выполняли с использованием программы MEGA 6.06.

Результаты исследования. В результате анализа установлено, что все сорта исследованной коллекции были гетерогенными по компонентному составу глиаина. Биотипы одного сорта отличались друг от друга по числу компонентов и их интенсивности. Минимальное число компонентов глиаина (15 шт.) было выявлено в спектре биотипа сорта Ульяна, максимальное (25 шт.) – в спектрах сортов Ульяна, ПРАГ 505 и Укро (табл. 2). Среднее количество белковых компонентов варьировало от $20,8 \pm 0,25$ у сорта Хлібодар харківський до $24,4 \pm 0,25$ у сорта Укро.

Количество обнаруженных биотипов варьировало от 2 (Кармен) до 14 (Ульяна) (табл. 2). В настоящее время доля гетерогенных сортов среди районированных неуклонно возрастает, так как они обладают целым рядом преимуществ по сравнению с гомогенными. Такие сорта характеризуются более высоким уровнем внутрисортных генетических различий, что положительно сказывается на их устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды и урожайности. Однако необходимо учитывать, что помимо особенностей выведения наличие нескольких типов спектра у одного сорта может быть вызвано и механическим засорением одного сорта семенным материалом другого. Тритикале склонна к перекрыстному опылению, несмотря на то что является самоопыляющейся культурой. Это приводит к высокому риску биологического засорения, вызванного спонтанной внутривидовой гибридизацией. Для того чтобы получить наиболее достоверную картину генетической дифференциации сортов тритикале и исключить возможность влияния на результаты исследования сортовой примеси, для построения дендрограммы нами были использованы только данные о компонентном составе глиаина основных биотипов от каждого из сортов.

Полученная дендрограмма представлена на рисунке.

В результате кластеризации все сорта разделились на два кластера ($Dice=0,38$). Сорт пшеницы Безостая 1 занял отдельно стоящее положение. Первый кластер сформировали сорта тритикале Мыкола, Скорый, Скорый 2, Дагво, Хлібодар

харківський, Соловей харківський и Ульяна. При этом между сортами Хлібодар харківський и Соловей харківський генетическая дистанция по Dice равнялась 0, что говорит об идентичности их глиаиновых спектров. По нашему мнению, причиной совпадения электрофоретических спектров этих сортов могла послужить общность их происхождения. Вероятно, сорта Хлібодар харківський и Соловей харківський были отобраны из одной и той же гибридной популяции. Также заслуживают внимания образовавшие один подкластер сорта Мыкола, Скорый и Скорый 2. По данным, предоставленным Всероссийским институтом генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, сорта Скорый и Скорый 2 имеют одинаковое происхождение и получены в результате отбора из популяции мексиканской яровой тритикале РСНЛ-TCL-216. Однако согласно полученной дендрограмме генетически ближе к сорту Скорый 2 сорт Мыкола, выведенный на Украине ($Dice=0,03$). Такая схожесть спектров запасных белков у сортов, не имеющих общего происхождения, может быть связана с особенностями селекционного процесса. Одно из важнейших свойств проламинов – это их подверженность действию отбора [11]. При этом адаптивным признакам популяций, сформировавшихся в определённых природно-климатических условиях, соответствуют общие маркирующие их аллели проламин-кодирующих локусов, наиболее ценные с практической точки зрения. На большом числе примеров показано наличие связей между изменчивостью спектров проламина и такими признаками, как экологическая пластичность, устойчивость к грибным и вирусным заболеваниям, продуктивность, физико-химические свойства зерна, хлебопекарные качества и многие другие [12, 13]. В процессе выведения исследованных сортов тритикале в разных селекционных центрах могли отбираться генотипы с одними и теми же ассоциациями генов, которым соответствуют определённые варианты блоков компонентов проламинов. Это привело к тому, что сорта Скорый 2 и Мыкола, отличающиеся по своему происхождению, обладают практически идентичным компонентным составом глиаина.

2. Характеристика спектров глиаина сортов яровой тритикале

Сорт	Число биотипов, шт.	Количество белковых компонентов в спектре		
		min	max	$M \pm m$
Ульяна	14	15	25	$22,3 \pm 0,66$
Хлібодар харківський	4	20	21	$20,8 \pm 0,25$
Соловей харківський	5	20	23	$21,2 \pm 0,49$
Мыкола	4	22	23	$22,5 \pm 0,29$
Скорый	5	22	24	$22,6 \pm 0,40$
Скорый 2	4	22	23	$22,5 \pm 0,29$
ПРАГ 505	9	21	25	$22,8 \pm 0,40$
Укро	5	24	25	$24,4 \pm 0,25$
Дагво	3	21	23	$22,3 \pm 0,67$
Кармен	2	23	23	$23,0 \pm 0,00$

Примечание: M – средняя арифметическая, m – ошибка средней арифметической

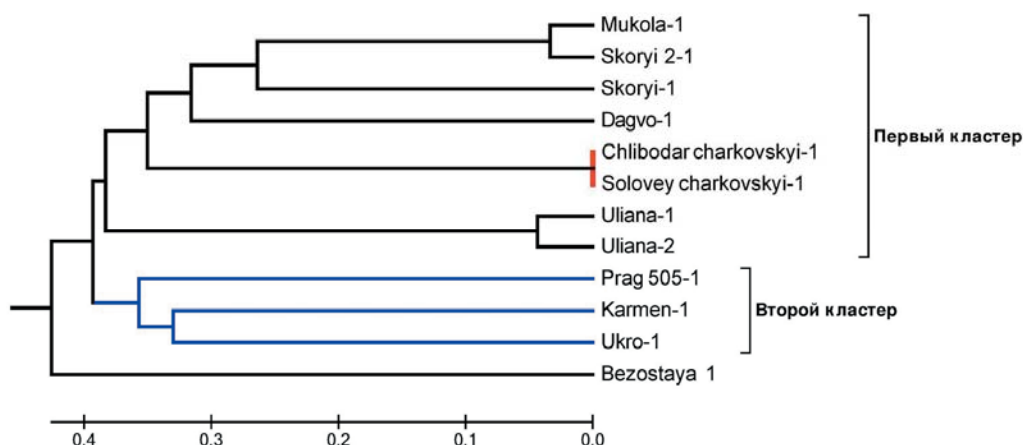


Рис. – Дендрограмма сортов яровой тритикале, построенная на основе данных о компонентном составе глиадина. Шкала показывает значение генетической дистанции по Dice. Через дефис указаны номера биотипов

Второй кластер сформировали сорта ПРАГ 505, Кармен и Укро, происхождением из Дагестана, Воронежской и Владимирской областей соответственно. Стоит отметить, что Ю.А. Романовой с соавторами (2001) при исследовании методом кластерного анализа полиморфизма глиадинов коллекции *Triticum spelta* L. установлено, что выделенные группы образцов во многом соответствовали систематическому и эколого-географическому делению вида [14]. Я.Г. Зеленская с соавторами (2004), применив данные методы для классификации староместных форм овса посевного, отметила слабую связь между распределением образцов в подкластеры и их принадлежностью к систематическим и эколого-географическим группам [15]. Нами также выявлена закономерность между географическим происхождением сортов и их распределением в разные кластеры. Так, все сорта тритикале происхождения с Украины вошли в первый кластер. Одну группу сформировали и сорта происхождения из Ленинградской области. Исключение составили сорта Укро и Дагво происхождения из Воронежской области, вошедшие в разные кластеры дендрограммы (рис.).

По нашему мнению, объединение сортов тритикале в один кластер или группу свидетельствует о том, что они обладают схожими хозяйственно ценными признаками. Таким образом, исследование запасных белков тритикале позволяет осуществлять поиск генотипов, несущих ценные с селекционной точки зрения ассоциации генов.

Выводы.

1. Исследованная коллекция сортов яровой тритикале характеризуется высоким уровнем полиморфизма по спектрам проламина. Все проанализированные образцы гетерогенные по компонентному составу глиадина. Количество биотипов составляет от 2 до 14 шт.

2. В результате кластеризации по спектрам глиадина исследованные сорта сгруппировались в 2 кластера (Dice=0,38). В первый кластер вош-

ли сорта тритикале Мыкола, Скорый, Скорый 2, Дагво, Хлібодар харківський, Соловей харківський и Ульяна, во второй – ПРАГ 505, Кармен и Укро. Глиадиновые спектры сортов Хлібодар харківський и Соловей харківський совпали (Dice=0). По нашему мнению, сорта, вошедшие в один кластер, обладают схожими или даже идентичными хозяйственно и адаптивно ценными признаками и свойствами.

3. Электрофоретический анализ глиадинов тритикале может успешно применяться в селекционном процессе – при оценке исходного материала для скрещиваний и позволит ускорить создание новых сортов с определённым комплексом признаков и свойств, необходимых для конкретной природно-климатической зоны.

Литература

1. Худенко М.А. Сравнительная характеристика образцов яровой тритикале коллекции ВИР в условиях красноярской лесостепи: дисс. ... канд. с.-х. наук. Красноярск, 2014. 168 с.
2. Митрофанова О.П. О генетическом разнообразии местных сортов мягкой пшеницы, собранных научными экспедициями в Афганистане / О.П. Митрофанова, П.П. Стрельченко, Е.В. Зуев [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012. Т. 16. № 3. С. 579–591.
3. Новикова Л.Ю. Анализ динамики хозяйственно ценных признаков сортов сельскохозяйственных культур в условиях изменения климата / Л.Ю. Новикова, В.Н. Дюбин, И.Г. Лоскутов, Е.В. Зуев [и др.] // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2013. Т. 173. С. 102–119.
4. Лоскутов И.Г. Роль молекулярно-биологических исследований в познании генофонда овса и его эффективном использовании в селекции // Аграрная Россия. 2008. № 3. С. 14–19.
5. Остапенко А.В. Полиморфизм проламина культурных видов рода *Avena* L. в филогенетических и прикладных исследованиях: дисс. ... канд. биол. наук. М., 2016. 175 с.
6. Любимова А.В., Ерёмин Д.И. Сравнительная характеристика коллекций посевного и византийского овса по компонентному составу авенина // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2017. № 12 (135). С. 3–9.
7. Иванисов А.Н., Таранова И.Н. Электрофоретический анализ запасных белков гибридных зерен образцов тритикале селекционного питомника второго года // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. 2014. № 2. С. 74–78.
8. Пенева Т.И., Кудрявцева Е.Ю., Клименков Ф.И. Регистрация по спектрам глиадина пяти районированных сортов озимой тритикале и анализ их подлинности и чистоты в

- процессе семеноводства // Роль тритикале в стабилизации производства зерна, кормов и технологии их использования: матер. междунар. науч.-практич. конф. 7–8 июня 2016 г. Ростов-на-Дону, 2016. Ч. 1. С. 145–154.
9. Ренев Е.П., Еремин Д.И., Еремина Д.В. Оценка основных показателей плодородия почв, наиболее пригодных для расширения пахотных угодий в Тюменской области // Достижения науки и техники АПК. 2017. Т. 31. № 4. С. 27–31.
 10. Лабораторный анализ белков семян пшеницы. Технологическая инструкция / В.П. Упелниек, А.Ю. Новосельская-Драгович, А.А. Шишкина, В.А. Мельник [и др.]. М.: ООО «ВАШ ФОРМАТ», 2013, 173 с.
 11. Генетическое разнообразие современных российских сортов яровой и озимой твёрдой пшеницы по глиадинкодирующим локусам / А.М. Кудрявцев, Л.В. Дедова, В.А. Мельник, А.А. Шишкина [и др.] // Генетика. 2014. Т. 50. № 5. С. 554.
 12. Зобова Н.В. Повышение адаптивности зерновых культур с использованием биотехнологии и белковых маркеров / Н.В. Зобова, В.Ю. Ступко, С.Ю. Луговцова [и др.] // Адаптивность сельскохозяйственных культур в экстремальных условиях Центрально- и Восточно-Азиатского макрорегиона: матер. симпоз. с междунар. участ. Красноярск, 2018. С. 35–46.
 13. Остапенко А.В., Тоболова Г.В. Анализ частоты встречаемости аллелей авенин-кодирующих локусов у сортов овса // Аграрный научный журнал. 2015. № 12. С. 24–26.
 14. Романова Ю.А. Исследование коллекции вида пшеницы *Triticum spelta* L. по полиморфизму глиадинов / Ю.А. Романова, Н.К. Губарева, А.В. Конарев [и др.] // Генетика. 2001. Т. 37. № 9. С. 1258–1265.
 15. Зеленская Я.Г. Характеристика староместных форм овса посевного (*Avena sativa* L.) из коллекции ВИР по полиморфизму авенина / Я.Г. Зеленская, А.В. Конарев, И.Г. Лоскутов [и др.] // Аграрная Россия. 2004. № 6. С. 50–58.