

# АНАЛИЗ ПО СПЕКТРАМ ГЛИАДИНА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ УСТОЙЧИВЫХ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ ОБРАЗЦОВ ТРИТИКАЛЕ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Пенева Т. И., Мартыненко Н. М., Кудрявцева Е. Ю.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР), 190000, Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44;  
✉ vir.peneva@gmail.com

Регистрация спектров глиаина ценных коллекционных образцов из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ВИР) в виде «белковых формул» дает надежную информацию для составления «белкового паспорта» каждого образца, удобна для хранения и компьютерной обработки и позволяет контролировать сохранность оригинальности образцов в процессе репродукции и использования в селекции. В изучение были вовлечены 17 образцов тритикале, выделенные по устойчивости к бурой ржавчине. Анализ проводили на единичных зерновках оригинальных образцов (выборка 13–26 зерновок) по стандартной методике, принятой в ВИР и утвержденной Международной ассоциацией по семенному контролю (ISTA). Зарегистрированы спектры глиаина тритикале в виде «белковых формул», дана оценка полиморфизма каждого образца и генетического разнообразия в пределах данной коллекции; по маркерным компонентам установлена генетическая структура образцов. Обнаружено большое разнообразие генотипов, что открывает возможность отбора образцов, сочетающих устойчивость с другими полезными признаками. Выявлены стабильные и полиморфные образцы, включающие от двух до семи биотипов. Наличие межбиотипных гибридов и рекомбинантных генотипов в составе некоторых полиморфных образцов свидетельствует о нестабильности их генетической структуры и продолжающемся формообразовательном процессе. Это связано с неоднородностью исходных родительских форм, склонностью к перекрестному опылению и недостаточной селекционной проработкой. Данные о структуре генотипов тритикале могут быть использованы в интродуктивной селекции для контроля переноса генетического материала ржи в сорта пшеницы с целью повышения их иммунитета и устойчивости к неблагоприятным факторам.

**Ключевые слова:** тритикале, устойчивость к бурой ржавчине, спектр глиаина, регистрация, генетическое разнообразие, маркирование.

**Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of the financial activities** Автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

**Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work**

**Дополнительная информация / Additional information** Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2019-2-6-13>

**Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer**

**Все авторы одобрили рукопись / All authors approved the manuscript**

**Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest**

## GENETIC STRUCTURE ANALYSIS OF LEAF RUST RESISTANT TRITICALE ACCESSIONS FROM THE VIR COLLECTION USING GLIADIN PATTERNS

Peneva T. I., Martynenko N. M., Kudryavtseva E. Yu.

N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42–44 Bolshaya Morskaya St., St. Petersburg 190000, Russia;  
✉ vir.peneva@gmail.com

The gliadin banding patterns of important accessions from the collection of the N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR) registered in the form of “protein formulas” provide reliable information for the preparation of a “protein passport” for each accession and is convenient for storage and computer processing. It helps to control originality and integrity of accessions during regeneration and their use in breeding. The study involved 17 triticales resistant to leaf rust. The analysis was carried out on single grains of the original accession (a sample of 13–26 kernels) according to the standard protocol adopted by VIR and approved by the International Seed Testing Association (ISTA). The gliadin electrophoretic banding patterns of triticales accessions were registered in the form of “protein formulas”; polymorphism of each accession and genetic diversity within the collection were estimated, and genetic structure of accessions was identified based on the marker protein components. A large variety of the revealed genotypes opens a possibility to identify accessions that combine resistance with other useful traits. Stable and polymorphic accessions including from 2 to 7 biotypes were found. The discovery of interbiotype hybrids and recombinant genotypes in the composition of some polymorphic accessions indicates the instability of their genetic structure and the ongoing formation process. This is due to the heterogeneity of the original parental forms, the tendency to cross-pollination and insufficiently thorough selection. The data on the triticales genotypic structure can be used in introgressive breeding to control the transfer of rye genetic material to wheat varieties in order to increase their immunity and resistance to adverse factors.

**Key words:** triticales, leaf rust resistance, gliadin banding pattern, registration, genetic diversity, marking.

**Для цитирования:** Пенева Т. И., Мартыненко Н. М., Кудрявцева Е. Ю. Анализ по спектрам глиаина генетической структуры устойчивых к бурой ржавчине образцов тритикале из коллекции ВИР. Биотехнология и селекция растений. 2019;2(2):6–13. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-2-6-13

**For citation:** Peneva T. I., Martynenko N. M., Kudryavtseva E. Yu. Genetic structure analysis of leaf rust resistant triticales accessions from the VIR collection using gliadin patterns. Plant Biotechnology and Breeding. 2019;2(2):6–13. (In Russ.) DOI: 10.30901/2658-6266-2019-2-6-13

УДК 633.19:547.96:543.545.2

Поступила в редакцию: 16.04.2019

Принята к публикации: 11.06.2019

## Введение

В связи с появлением в производственных посевах тритикале эпифитотий бурой листовой ржавчины возникла необходимость поиска в мировой коллекции ВИР новых источников устойчивости к бурой ржавчине. Совместно с Всероссийским институтом защиты растений был проведен скрининг 416 образцов тритикале на ювенильную устойчивость к бурой ржавчине, в результате которого 17 были выделены как источники устойчивости. (Mikhailova et al., 2009). Данные образцы получены с использованием сложных схем скрещивания, в результате чего возможно замещение отдельных хромосом геномов пшеницы хромосомами ржи, сопровождающееся перестройкой хромосомного аппарата. При этом замены хромосом и транслокации возникают в основном между геномами D и R, иногда встречаются образцы тритикале, включающие сегментарные образования и по линии геномов A и B. Хромосомы генома ржи в составе тритикале играют определяющую роль в обеспечении устойчивости к болезням. Число хромосом ржи у вторичных гексаплоидных тритикале может быть разным, но, как правило, присутствует хромосома 1R или ее короткое плечо 1RS, на котором картированы гены *LR26*, *Sr31*, *Yr9*, определяющие комплексную устойчивость к бурой, стеблевой и желтой ржавчинам, а также ряд генов адаптивности (Singh et al., 1990). Анализ наследования устойчивости к бурой ржавчине показал, что образцы данной коллекции могут иметь неидентичные гены устойчивости, что предполагает наличие у них значительного генетического разнообразия (Mikhailova et al., 2010). Для сохранения и успешного использования в селекции выявленных источников устойчивости необходимо изучить и зарегистрировать генетическую структуру каждого образца, определить особенности геномного и хромосомного состава. Это позволит выделить наиболее ценные образцы, сочетающие устойчивость к бурой ржавчине с другими полезными признаками и контролировать их сохранность в процессе репродукции и на разных этапах семеноводства.

В анализе генетических систем растений наряду с полевой апробацией и цитогенетическими методами успешно используется маркирование их с помощью ДНК и белков. Одной из главных предпосылок такого маркирования по белкам (принцип «отпечатков пальцев») является структурная и функциональная сопряженность всех генетических и морфогенетических процессов в организме (Konarev, 1983; 1998). В качестве белковых маркеров злаков хорошо зарекомендовали себя электрофоретические спектры проламина – множественного генетически полиморфного запасного белка эндосперма зерновки. Для пшеницы и тритикале это белок – глиадин, для ржи – секалин. Высокий полиморфизм, детальная изученность генетического контроля спектра проламина, простота и доступность стандартного мето-

да электрофореза, не требующего дорогостоящего оборудования, позволяет регистрировать в виде «белковых формул» отдельные генотипы, анализировать внутривидовую структуру различных злаков (в том числе пшеницы, ржи и тритикале), контролировать сохранение целостности и оригинальности образцов в процессе репродукции и в семеноводстве (Konarev et al., 1993; Konarev et al., 2000; Konarev A.V., 2006; Gubareva et al., 2015). К настоящему времени выполнен детальный анализ генетического разнообразия по спектрам глиадина у пшеницы и секалина у ржи. Изучению тритикале, устойчивых к бурой ржавчине, предшествовала значительная работа по идентификации, регистрации и оценке генетической структуры образцов различного происхождения и уровня плоидности с помощью белковых маркеров (Konarev, 2001; Peneva et al., 1993, 2009, 2016). Показано, что спектр глиадина тритикале контролируется первой и шестой группами гомеологичных хромосом геномов пшеницы и хромосомой 1R ржи. Выявлены компоненты и блоки компонентов, маркирующие отдельные хромосомы пшеницы и хромосому 1R ржи. Так, компонент  $\alpha 6$  маркирует длинное плечо хромосомы 6D; дублет  $\omega 89$  – хромосому 1D (точнее 1DS);  $\omega 6\gamma 4$  – хромосому 1BS. Для всех типов спектра секалина ржи характерно наличие компонентов  $\omega 234$  или  $\omega 234\gamma 5$ , иногда обозначаемых как блоки GLD1BS или 1B3, кодируемые сложным полигенным локусом *Sec1*, а в случае  $\omega 234\gamma 5$  – дополнительно локусом *Sec4*. Последний был идентифицирован на хромосоме 1RS вблизи локуса *Sec1* и между ними выявлены межлокусные рекомбинации (Khmil, 1995). Блоки компонентов  $\omega 234$  и  $\omega 234\gamma 5$  представлены различными вариантами в зависимости от аллельного состояния кодирующих их генов, а также межгенных и межлокусных рекомбинаций (Peneva et al., 1994), что может влиять на активность генов устойчивости *Lr26*, *Sr31*, *Yr9*, находящихся в локусе *Sec1*. В связи с этим анализ и регистрация данных блоков в спектрах тритикале, устойчивых к бурой ржавчине, имеет особое значение.

В задачи настоящей работы входило: по электрофоретическим спектрам глиадина зарегистрировать в виде «белковых формул» 17 образцов тритикале, устойчивых к бурой ржавчине; дать оценку генетического разнообразия и выявить особенности генетической структуры каждого образца для последующего контроля сохранения их оригинальности в процессе репродукции и селекции.

## Материал и методика исследования

В исследование были включены 17 наиболее ценных сортов и линий тритикале, устойчивых к двум агрессивным (дербентской и рождественской) популяциям бурой ржавчины. Это вторичные гексаплоидные тритикале (14 озимых и 3 яровых) различного эколого-географи-

ческого происхождения. Изученные образцы тритикале с указанием оригинаторов и места репродукции представлены в таблице, где ОС – материал, полученный от оригинатора, ДОС – из Дагестанской опытной станции ВИР – филиала ВИР. Выборка составляла 13–26 зерновок оригинального материала, а при его отсутствии использовали зерно наиболее ранних репродукций из коллекции ВИР.

Глиадин выделяли из индивидуальных зерновок и анализировали методом электрофореза в вертикальных пластинах 7,5% полиакриламидного геля (ПААГ) в ацетатном буфере pH 3,1 по стандартной методике, описанной в книге «Идентификация сортов и регистрация гено-

фонда культурных растений по белкам зерна» (Konarev et al., 2000). Идентификацию компонентов и запись спектров в виде «белковых формул» проводили по эталонному спектру в соответствии с принятой номенклатурой. В качестве эталона использовали сорт мягкой пшеницы Кавказ, так как в спектре глиадина данного сорта благодаря наличию транслокации 1BL.1RS, четко представлен блок компонентов  $\omega 23_1 4\gamma 5$ , маркирующий короткое плечо 1RS (Peneva et al., 2002). Спектры с одинаковым составом компонентов во всех зонах рассматривали как относящиеся к одному биотипу. Интенсивные компоненты подчеркивали снизу, слабые сверху. Субкомпоненты отмечали подстрочными индексами 1 и 2.

Таблица. Характеристика материала

Table. Characteristics of the material

№ по каталогу ВИР VIR Cat. No.	Сорт/образец Variety/Accession	Тип развития Development type	Оригинатор Origin	Место, год репродукции Regeneration place, year
к-454	ПРАГ 72	озимый	РФ, Дагестан	ДОС, 1978
к-1568	ПРАГ 126	яровой	РФ, Дагестан	ДОС, 1981
к-244	ПРАГ 60/1	озимый	РФ, Дагестан	ДОС, 1991
к-1350	ТГИ-8/1	озимый	РФ, Дагестан	ДОС, 1988
к-1364	ТГИ-17/1	озимый	РФ, Дагестан	ДОС, 1988
к-1569	ПРАГ 140/1	озимый	РФ, Дагестан	ДОС, 1984
к-3624	КН-88-109 Т 40-43	озимый	РФ, Краснодарский край	ДОС, 2002
к-1508	Тальва 100	озимый	РФ, Воронежская обл.	ОС, 1988
к-1507	Матырское	озимый	РФ, Воронежская обл.	ОС, 1988
к-3419	АД 52	озимый	Украина	ОС, 1977
к-1672	БГ-13	озимый	Белоруссия	ОС, 1988
к-3612	Kolor	озимый	Чехия	ДОС, 2002
к-1894	TF-123 Tj-1	озимый	Румыния	ДОС, 2005
к-1505	Картли 6	озимый	Грузия	ДОС, 1988
к-3634	AC Frank	яровой	Канада	ДОС, 1991
к-2203	Liebre "S"	яровой	США	ДОС, 1986
к-2336	Tapir "S"	яровой	Мексика	ДОС, 1991

## Результаты и обсуждение

На рисунках 1–3 представлены электрофоретические спектры глиадина и «белковые формулы» 17 образцов тритикале, устойчивых к бурой ржавчине. Такая форма представления первичной информации, необходимой для составления «белкового паспорта» каждого образца, удобна для хранения и последующей компьютерной обработки. Практически все изученные сорта различают-

ся по компонентному составу спектров глиадина, что свидетельствует о генотипических различиях между ними и генетическом разнообразии данной коллекции. Анализ индивидуальных зерновок позволил определить уровень внутрипопуляционного полиморфизма каждого образца. В зависимости от числа биотипов в выборке выделены моно-, ди- и полиморфные сорта. Монотипные сорта (рис. 1) различаются между собой как по составу отдельных фракций, так и по спектру в целом, что четко отражено в белковых формулах.

СОРТ	Электрофоретический спектр глиадина				Белковая формула			
	ω	γ	β	α	α	β	γ	ω
Кавказ					5 67 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2 3 <sub>2</sub> 45	23 5	2 3 <sub>1</sub> 46 <sub>1</sub> 8 <sub>2</sub> 9 <sub>1</sub>
Liebre «S»					5 <sub>1</sub> 7 <sub>1</sub>	23 <sub>1</sub> 4 <sub>2</sub> 5 <sub>1</sub>	1234 <sub>1</sub>	2346 <sub>1</sub>
Тарпир «S»					5 <sub>1</sub> 7 <sub>1</sub>	23 <sub>1</sub> 34 <sub>2</sub> 5 <sub>1</sub>	1 3	234 6 <sub>1</sub> 6 <sub>2</sub> 7 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub>
ТГИ 8/1					5 67 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2345	345	2 <sub>2</sub> 346 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub>
Матырское					67 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	23 <sub>2</sub> 45	1 34	2 <sub>2</sub> 346 <sub>1</sub> 7 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub> 8 <sub>2</sub>
TF-123 TJ 1					567 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	23 45 <sub>1</sub> 5 <sub>2</sub>	123 4 <sub>1</sub> 5	2 346 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>
БГ-13					2 47 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	23 <sub>2</sub> 45 <sub>1</sub>	234 5	23 46 <sub>1</sub> 6 <sub>2</sub> 7 <sub>1</sub>
Kolor					67 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2345 <sub>1</sub> 5 <sub>2</sub>	34 <sub>1</sub> 5	23 46 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub>

Рис. 1. Электрофоретические спектры глиадина монотипных образцов тритикале и их «белковые формулы»

Fig. 1. Gliadin electrophoretic banding patterns of monotypic triticale accessions and their “protein formulas”

СОРТ	Биотип	Электрофоретический спектр глиадина				Белковая формула				% в выборке
		ω	γ	β	α	α	β	γ	ω	
Тальва 100	I					67 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2 3 <sub>2</sub> 4 5	1 3	2 <sub>2</sub> 3 4 6 <sub>1</sub> 6 <sub>2</sub> 7 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub>	51
	II					67 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2 3 <sub>2</sub> 4 5	134	2 <sub>2</sub> 3 4 6 <sub>1</sub> 6 <sub>2</sub> 7 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub>	49
КН – 88 -109Т 40 -43	I					347 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	23 4 <sub>1</sub> 5	2 3 5 <sub>1</sub>	2 <sub>2</sub> 3 4 6 <sub>1</sub> 6 <sub>2</sub> 7 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub>	85
	II					347 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	234 <sub>1</sub> 5	2 3 4 <sub>1</sub> 5 <sub>1</sub>	2 <sub>2</sub> 3 4 6 <sub>1</sub> 6 <sub>2</sub> 7 <sub>1</sub>	15
АС Frank	I					5 <sub>1</sub> 7 <sub>1</sub>	2 3 4 5	3 4 <sub>1</sub> 5 <sub>2</sub>	2 3 4 6 <sub>1</sub> 7 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub>	77
	II					5 <sub>1</sub> 7 <sub>1</sub>	2 3 4 5 <sub>1</sub>	1 3 4 <sub>1</sub>	2 3 4 6 <sub>1</sub> 7 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub>	23
ПРАГ 126	I					6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2 3 4 <sub>2</sub> 5 <sub>1</sub>	1 24 <sub>2</sub> 5	2 3 4 6 <sub>1</sub> 6 <sub>2</sub>	54
	II					56 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2 3 4 <sub>2</sub> 5 <sub>1</sub>	1 2 4 <sub>2</sub> 5	2 3 4 6 <sub>1</sub> 6 <sub>2</sub>	46
ТГИ 17/1	I					24	2345	14	2 3 4 6 <sub>1</sub> 6 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub>	15
	II					247 <sub>1</sub>	2 3 4 5	2 5	2 3 4 <sub>1</sub> 6 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub>	85
АД 52	I					567 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2 3 4 5 <sub>1</sub>	1 234 <sub>1</sub> 5	2 34 67 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 9 <sub>1</sub>	7
	II					567 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2 3 4	134	2 <sub>2</sub> 3 <sub>1</sub> 4 67 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 9 <sub>1</sub>	93
Кавказ	st					5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub>	2 3 4 5	2 3 5	2 3 <sub>1</sub> 4 6 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub> 9 <sub>2</sub>	

Рис. 2. Электрофоретические спектры диморфных образцов тритикале, их «белковые формулы» и доли биотипов (в %) в исследуемых выборках

Fig. 2. Gliadin electrophoretic banding patterns of dimorphic triticale accessions, their “protein formulas” and percentage of biotypes within the studied samples



Исключение составляют Liebre "S" (США) и Tapir "S" (Мексика), имеющие идентичную  $\alpha$ -зону, в которой четко представлены компоненты  $\alpha 5_1 7_1$ . Отсутствие внутривариационного полиморфизма у монотипных сортов свидетельствует об их стабильности. Однако такое заключение является в некоторой степени условным, так как на данном этапе были исследованы лишь небольшие выборки и при увеличении их размера могут быть выявлены дополнительные биотипы. Так, ПРАГ 60/1 сначала был включен в группу монотипных сортов, но при анализе большей выборки (26 зерновок) выделено еще несколько биотипов, один из которых имеет гибридное происхождение.

На рисунке 2 представлены образцы, в составе которых выявлено по два биотипа. Наряду со спектрами и их «белковыми формулами» указана доля каждого биотипа в выборке.

Биотипы в пределах образцов различаются по нали-

чию-отсутствию, а иногда только по интенсивности одного-двух компонентов в разных зонах спектра и, как правило, один из биотипов доминирует. Так, у АД 52 доминирующий биотип II отличается от биотипа I отсутствием слабых компонентов  $\beta 5$ ,  $\gamma 2$  и  $\gamma 5$ , также особой структурой маркерного блока  $\omega 2_2 3_1 4$ . Аналогичные различия отмечены и у других образцов. Особенностью КН-88-109 Т 40-43 является редко встречающееся в спектрах глинада сочетание очень слабых компонентов  $\alpha 3 4 7_1 7_2$ . У образца ТГИ-17/1  $\alpha$ -зона практически отсутствует. В составе ПРАГ 126 оба биотипа присутствуют примерно в равном соотношении и отличаются только по наличию/отсутствию слабого компонента  $\alpha 5$ , то есть данный сорт близок к монотипным образцам. У сорта Тальва 100 биотипы различаются по наличию слабого компонента  $\gamma 4$ , один из биотипов идентичен сорту Матырское.

СОРТ	Биотип	Электрофоретический спектр глинада				Белковая формула				% в выборке
		$\omega$	$\gamma$	$\beta$	$\alpha$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\omega$	
Кавказ						$\overline{5} 6 7_1 7_2$	$2 3_2 4 5_1$	$2_2 3 5$	$2 \overline{3} 4_1 6_1 8_2 9_2$	
Картли 6	I					$\overline{6} 7_1 7_2$	$2 3 4 5$	$1 3 4_1$	$2_2 \overline{3} 4_1 6_1 8_2 9_2$	78
	II					$\overline{6} 7_1 7_2$	$2 3 4 5_1$	$3 4_1 5_2$	$2 3 4_1 6_1 8_2 9_2$	14
	III					$\overline{6} 7_1$	$2 3 4 5$	$1_1 3 4 5_2$	$2 3 4_1 6_1 8_2 9_2$	8
ПРАГ 60/1	I					$\overline{2} 4 7_1 7_2$	$2 3 4_2 5_1$	$\overline{2} 4 5$	$\overline{2} 2 3 4_1 6_1 7_1$	61
	II					$\overline{2} 4 6 7_1$	$\overline{2} 3_1 3 4_2 5_1$	$1 4 5$	$\overline{2} 2 3 4_1 6_1 7_1$	4
	III					$\overline{2} 4 6 7_1 7_2$	$2 3 4 5$	$1 2 4 5$	$\overline{2} 2 3 4_1 6_1 7_1$	9
	IV					$\overline{2} 4 7_1 7_2$	$\overline{2} 3 4 5_1$	$\overline{2} 4$	$\overline{2} 2 3 4_1 6_1 7_1$	26
ПРАГ 72	I					$\overline{2} 4 6 7_1$	$\overline{1} 2 3_2 4 5_1$	$1 2 3 4_1$	$\overline{2} 2 3_1 4_1 6_1 7_1 8_1$	23
	II					$\overline{2} 4$	$2 3_2 4 5_1$	$2 4$	$\overline{2} 2 3 4_1 6_1 7_1$	69
	III					$\overline{2} 4 6 7_1$	$1 2 3_2 4 5$	$2 3 4 5$	$\overline{2} 2 3 4_1 6_1 7_1 8_1$	8
ПРАГ 140	I					$\overline{5} 6 7_1 7_2$	$\overline{2} 3 4_1 5$	$1 2 4 5$	$1 2 3 4_1 6_1 7_1$	31
	II					$\overline{5} 6 7_1 7_2$	$\overline{2} 3 4 5_1$	$2 4 5$	$1 2 3 4_1 6_1 7_1$	23
	III					$\overline{5} 6 7_1 7_2$	$\overline{2} 3 4 5_1$	$3$	$1_1 2 3 4_1 6_1 7_1$	15
	IV					$\overline{5} 6 7_1 7_2$	$\overline{2} 3 4 5$	$3_1 5_2$	$1_1 2 3 4_1 6_1 7_1$	15

Рис. 3. Электрофоретические спектры политипных образцов тритикале, их «белковые формулы» и доли биотипов (в %) в исследуемой выборке

Fig. 3. Gliadin electrophoretic banding patterns of polytypic triticale accessions, their "protein formulas" and percentage of biotypes within the studied sample

Наиболее полиморфными (число биотипов в выборке 3–7) оказались сорта Картли 6, ПРАГ 60/1, ПРАГ 72, ПРАГ 140/1. Три из них получены на Дагестанской опытной станции ВИР путем сложных схем скрещивания различных образцов тритикале, пшеницы и ржи. При создании грузинского сорта Картли 6 использовали аборигенные пшеницы Грузии и более 200 разнообразных по происхождению образцов тритикале из мировой коллекции ВИР (Mikhailova et al., 2009). На рисунке 3 представлены электрофоретические спектры основных биотипов полиморфных сортов и их «белковые формулы».

Доля доминирующего биотипа сорта Картли 6 составляет 78%. Два других биотипа отличаются между собой и от основного биотипа. В составе ПРАГ 60/1 выявлено четыре биотипа. Из них лидирует по частоте (61%) биотип I. В спектрах всех биотипов компоненты  $\alpha$ -зоны проявляются в виде следа. Биотип III, по всей вероятности, является гибридом между биотипами II и IV (см. рис. 3). ПРАГ 72 по спектрам близок к ПРАГ 60/1. У них практически одинакова  $\alpha$ -зона, сходство имеется также по  $\beta$ - и  $\omega$ -зонам. Доминирующий второй биотип, скорее всего, является межбиотипным гибридом. В выборке у ПРАГ 140/1 обнаружено семь биотипов, что свидетельствует о высоком внутривидовом полиморфизме данного образца. На рисунке 3 представлены спектры только четырех основных биотипов, остальные три имеют низкую частоту встречаемости и являются межбиотипными гибридами. Отдельные биотипы ПРАГ 140/1 по структуре  $\alpha$ -зоны близки к сортам пшеницы Безостая 1 и Кавказ и по данному признаку отличаются от других рассматриваемых полиморфных сортов тритикале. В спектрах всех биотипов ПРАГ 140/1 наиболее вариабельна  $\gamma$ -зона. Наличие межбиотипных гибридов и рекомбинантных генотипов указывают на нестабильность генетической структуры полиморфных сортов данной коллекции тритикале и продолжающийся формообразовательный процесс. Причиной этого может быть разнородность исходного материала, склонность к перекрестному опылению и недостаточная селекционная проработка. Как видно на рисунке 3, спектры отдельных биотипов полиморфных сортов имеют несколько смазанный рисунок. Вероятно, это связано с незрелостью зерна, либо с проращиванием его в колосе.

Таким образом, регистрация спектров глиадина индивидуальных зерновок образцов тритикале, устойчивых к бурой ржавчине, выявила большое разнообразие генотипов. Выделены образцы, в спектрах которых присутствуют компоненты, указывающие на их возможное генетическое родство. Так, у Liebre "S" (США), Tapir "S" (Мексика) и AC Frank (Канада) в  $\alpha$ -зоне спектра четко и интенсивно представлены компоненты  $\alpha 5_1 7_1$  (см. рис. 1, 2), встречающиеся в спектрах мексиканских тетраплоидных пшениц. По-видимому, использование этих пшениц позволило создать стабильные сорта тритикале с такой структурой  $\alpha$ -зоны. В спектрах образцов БГ-13,

ТГИ-17/1, ПРАГ 60/1, ПРАГ 72 присутствуют слабые по интенсивности компоненты  $\alpha 24$ . Наличие таких компонентов в спектрах глиадина сортов пшеницы украинской селекции Мироновская 808, Одесская и других, отличающихся повышенной морозостойкостью (Gubareva et al., 2002), показывает на возможное участие этих пшениц в формировании данных сортов тритикале. Сходство сортов Тальва 100 и Матырское, вероятно, связано с особенностями исходного материала и методами селекции, используемыми в Воронежском селекцентре.

Анализ спектров глиадина тритикале по ранее выявленным маркерам хромосом пшеницы и ржи показал, что компоненты  $\alpha$ -зоны, кодируемые локусами *Gld6A* и *Gld6D* на хромосомах 6A и 6D пшеницы, у образцов тритикале представлены по-разному. Отсутствие компонента  $\alpha 6$  в спектрах БГ-13, КН-88-109 Т 40-43, ТГИ-17/1, ПРАГ 60/1 (биотипы I и IV), ПРАГ 72 (биотип II) указывает на элиминацию хромосомы 6D или ее локуса *Gld6D*. В спектрах Liebre "S", Tapir "S" и AC Frank также отсутствует  $\alpha 6$ , что вполне объяснимо возможным участием в их создании тетраплоидных мексиканских пшениц. Проявление в виде следов компонентов  $\alpha$ -зоны в спектрах многих образцов тритикале (см. рис. 1–3) может быть обусловлено подавлением активности глиадин-кодирующих локусов на хромосомах 6A и 6D.

Компоненты  $\beta$ -зоны контролируются хромосомами геномов пшеницы и хромосомой 1R ржи и по подвижности в спектре глиадина часто совпадают друг с другом. Поэтому данным методом электрофореза невозможно определить, из-за каких хромосомных перестроек происходят изменения интенсивности и сдвиг подвижности отдельных компонентов.

Состав компонентов  $\gamma$ -зоны значительно варьирует. У большинства образцов наряду блоком  $\omega 6 \gamma 4$ , маркирующим хромосому 1B, а точнее ее короткое плечо 1BS, в спектре присутствуют маркеры хромосомы 1RS – компоненты  $\omega 234$  или  $\omega 234 \gamma 5$ . Это возможно при условии, если сорт является гетерозиготным по нормальной пшеничной хромосоме 1B и хромосоме, содержащей пшенично-ржаную транслокацию 1BL.1RS, или включает целую хромосому 1R (Peneva et al., 2002).

Во фракции  $\omega$ -глиадина маркерами короткого плеча хромосомы 1D (1DS) являются компоненты  $\omega 89$  и близкие им по подвижности аллельные варианты  $\omega 8_2 9_1$ ,  $\omega 8_1 9_2$  и другие. В спектрах обоих биотипов образца АД 52 присутствуют компоненты  $\omega 8_1 9_1$  у сорта Картли 6 (биотипы I и III) –  $\omega 8_1 9_2$  очень слабой интенсивности. Возможно, у этих образцов в незначительном количестве имеется материал хромосомы 1D пшеницы. Это важно, так как с хромосомой 1D связаны хлебопекарные качества пшеницы.

Особое значение в анализе тритикале по спектрам глиадина имеет идентификация генетического материала короткого плеча хромосомы 1R (1RS) ржи с помощью маркерного блока GLD1BS или 1B3 (компоненты  $\omega 234$

и  $\omega 234\gamma 5$ ). Как видно на рисунках 1–3, данный маркерный блок присутствует в спектрах глинаина всех исследованных образцов тритикале в нескольких вариантах. Всего выявлено более 10 вариантов, различающихся по интенсивности отдельных компонентов, сдвигу по подвижности или наличию/отсутствию  $\gamma 5$ . Основные из них имеют следующие формулы:  $\omega 234$ ,  $\omega 23_1 4$ ,  $\omega 2_2 34$ ,  $\omega 2_2 3_1 4$ ,  $\omega 234\gamma 5$ ,  $\omega 23_1 4\gamma 5$ ,  $\omega 2_2 34\gamma 5$ . Наличие различных вариантов в первую очередь зависит от особенностей биотипов ржи, принимавших участие в формировании данных образцов тритикале. Играет роль также аллельное состояние генов, возможные межгенные рекомбинации в сложном локусе *Sec1*, а также межлокусные рекомбинации между *Sec1* и *Sec4*. Все это может оказывать влияние на характер проявления генов устойчивости, входящих в локус *Sec1*. Возможно, этим объясняются колебания по типу устойчивости от 0 до 3 у образцов тритикале данной коллекции (Mikhailova et al., 2010). Нельзя исключить взаимодействие генов устойчивости, локализованных на хромосоме 1RS, с генами устойчивости на других хромосомах ржи. Некоторые различия по типу устойчивости к бурой ржавчине можно также объяснить эпистатическими взаимодействиями между геномами пшеницы и ржи в генотипах тритикале, маркированных спектрами глинаина.

Необходимо отметить, что данные по анализу спектров глинаина образцов тритикале с помощью ранее установленных маркеров хромосом дают возможность контролировать наличие не только генов устойчивости, но и генов, ответственных за другие признаки. Так, в спектрах особенно полиморфных образцов тритикале часто встречаются маркерные блоки  $\omega 2_2 34$  и  $\omega 2_2 34\gamma 5$ , характерные для биотипов ржи, несущих ген доминантной короткостебельности *H1*. Наличие таких маркерных блоков в спектрах некоторых образцов тритикале, по всей вероятности, указывает на эффективное включение этого гена от доноров ЕМ-1, Малыш-72, Россиянка, используемых в селекции тритикале на Дагестанской опытной станции ВИР.

## Выводы

Регистрация спектров глинаина образцов тритикале, устойчивых к бурой ржавчине, в виде «белковых формул» дает надежную информацию для составления «белкового паспорта» каждого образца и удобна для хранения и компьютерной обработки. Это позволит контролировать сохранность генетической структуры образцов в коллекции, при репродукции и в процессе семеноводства.

Выявлено генетическое разнообразие 17-ти исследованных образцов тритикале, что открывает возможность для отбора образцов с благоприятным сочетанием устойчивости с другими полезными признаками.

Определены образцы тритикале:

- со стабильной генетической структурой – Liebre "S" (к-2203); Tapir "S" (к-2336); ТГИ-8/1 (к-1350); Матырское (к-1507); TF-123 Tj-1 (к-1894); БГ-13 (к-1672); Kolor (к-3612);
- полиморфные, содержащие от двух до семи биотипов – Тальва 100 (к-1508); КН-88-109 Т 40-43 (к-3624); AC Frank (к-3634); ПРАГ 126 (к-1568); ТГИ-17/1 (к-1364); АД 52 (к-3419); Картли 6 (к-1505); ПРАГ 60/1 (к-244); ПРАГ 72 (к-454); ПРАГ 140/1 (к-1569).

Наличие межбиотипных гибридов и рекомбинантных генотипов в составе полиморфных образцов свидетельствует о нестабильности генетической структуры и продолжающемся формообразовательном процессе. Выявленный полиморфизм по спектрам глинаина указывает на необходимость исследования выборки большего размера для уточнения состава и исследования свойств отдельных биотипов.

Использование электрофоретических маркеров ряда хромосом, их плеч и отдельных локусов пшеницы и ржи расширяет возможности контроля включения отдельных генных комплексов родителей в гибриды в процессе гибридизации. Это позволит повысить эффективность селекционного процесса не только у тритикале, но и при интрогрессии генетического материала ржи во вновь создаваемые сорта пшеницы с целью повышения иммунитета и устойчивости к неблагоприятным факторам.

*Работа выполнена в рамках государственного задания ВИР № 0662-2019-0006 «Поиск, поддержание жизнеспособности и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».*

*Приносим глубокую благодарность сотрудникам отдела биохимии и молекулярной биологии ВИР Э. Э. Еггю и В. В. Васипову за помощь в оформлении рисунков.*

## References / Литература

- Gubareva NK, Alpatieva NV (2002) On the use of protein markers in the evaluation of frost-resistance of common winter wheat. *Agrarian Russia* 3: 31–34 [in Russian] (Губарева Н.К., Алпатьева Н.В., К вопросу об использовании белковых маркеров в оценке морозостойкости озимой мягкой пшеницы // Аграрная Россия. 2002. № 3. С. 31–34).
- Gubareva NK, Gavriljuk IP, Konarev AV (2015) Identification of crop varieties by the electrophoretic patterns of storage proteins. *Agrarian Russia* 11: 21–26 [in Russian] (Губарева Н.К., Гаврилюк И.П., Конарев А.В. Идентификация сортов сельскохозяйственных культур по электрофоретическим спектрам запасных белков // Аграрная Россия. 2015. № 11. С. 21–26).
- Khmil TO (1995) Genetic control of rye secalins (*Secale cereale* L.). Abstract of candidate's thesis. St. Petersburg: VIR. 16 p. [in Russian] (Хмель Т.О. Генетический контроль секалинов ржи (*Secale cereale* L.): автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.15. СПб.: ВИР, 1995. 16 с.).

- Konarev AV (2006) The use of molecular markers for solving problems of plant genetics resources and plant breeding. *Agrarian Russia* 6: 4–22 [in Russian] (Конярев А.В. Использование молекулярных маркеров в решении проблем генетических ресурсов растений и селекции // Аграрная Россия. 2006. № 6. С. 4–22).
- Konarev VG (1983) Plant proteins as genetic markers. Moscow: Kolos. 320 p. [in Russian] (Конярев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. М.: Колос, 1983. 320 с.).
- Konarev VG (1998) Morphogenesis and molecular-biological analysis of plants. St. Petersburg: VIR. 376 p. [in Russian] (Конярев В.Г. Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений. СПб.: ВИР, 1998. 376 с.).
- Konarev VG (2001) Genomic and chromosomal analysis of triticale. In: Morphogenesis and Molecular Biological Analysis of Plants. 2<sup>nd</sup> ed. St. Petersburg: VIR. p. 277–283 [in Russian] (Конярев В.Г. Геномный и хромосомный анализ тритикале // Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений. 2-е изд. СПб.: ВИР, 2001. С. 277–283).
- Konarev VG, Gavriljuk IP, Gubareva NK et al. (1993) Theoretical Basis of Plant Breeding. Vol. 1. Molecular biological aspects of applied botany, genetics and plant breeding. VG Konarev (ed.). Moscow: Kolos. 447 p. [in Russian] (Конярев В.Г., Гаврилюк И.П., Губарева Н.К. и др. Теоретические основы селекции. Т. 1. Молекулярно-биологические аспекты прикладной ботаники, генетики и селекции / под ред. В. Г. Конярева. М.: Колос, 1993. 447 с.).
- Konarev VG, Gavriljuk IP, Gubareva NK et al. (2000) Identification of Varieties and Registration of the Cultivated Plants Genetic Diversity by Seed Proteins. St. Petersburg: VIR. 320 p. [in Russian] (Конярев В.Г., Гаврилюк И.П., Губарева Н.К. и др. Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян. СПб.: ВИР, 2000. 320 с.).
- Konarev VG, Konarev AV, Gubareva NK, Peneva TI (2000) Seed proteins as markers in resolving the problems of genetic plant resources, breeding and seed production. *Cytology and Genetics* 34 (2): 91–104 [in Russian] (Конярев В.Г., Конярев А.В., Губарева Н.К., Пенева Т.И. Белки семян как маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений, селекции и семеноводства // Цитология и генетика. 2000. Т. 34. № 2. С. 91–104).
- Mikhailova LA, Merezsko AF, Funtikova EYu (2009) Triticale diversity in leaf rust resistance. *Dokl. Russian Akad. Sel'skokhoz. Nauk* 5: 27–29 [in Russian] (Михайлова Л.А., Мережско А.Ф., Фунтикова Е.Ю. Разнообразие тритикале по устойчивости к бурой ржавчине // Доклады РАСХН. 2009. № 5. С. 27–29).
- Mikhailova LA, Merezsko AF, Funtikova EYu (2010) Genetic control of triticale leaf rust resistance. *Dokl. Russian Akad. Sel'skokhoz. Nauk* 2: 3–6 [in Russian] (Михайлова Л.А., Мережско А.Ф., Фунтикова Е.Ю. Генетический контроль устойчивости тритикале к бурой ржавчине // Доклады РАСХН. 2010. № 2. С. 3–6).
- Peneva TI, Khmil TO, Konarev VG (1994) Genetic control of rye secalins. *Rus. J. Genet.* 30: 118 [in Russian] (Пенева Т.И., Хмыль Т.О., Конярев В.Г. Генетический контроль секалинов ржи // Генетика. 1994. Т. 30. С. 118).
- Peneva TI, Kudryakova NV, Konarev VG (1993) Identification, registration and evaluation of the genetic structure of triticale. In: Molecular genetic aspects of applied botany, genetics and breeding. Moscow: Kolos. p. 175–192 [in Russian] (Пенева Т.И., Кудрякова Н.В., Конярев В.Г. Идентификация, регистрация и оценка генетической структуры тритикале // В кн.: Молекулярно-генетические аспекты прикладной ботаники, генетики и селекции. М.: Колос, 1993. С. 175–192).
- Peneva TI, Kudryavtseva EYu, Klimenkov FI (2016) Registration of the five released varieties of winter triticale based on gliadin spectra, analysis of identity and purity of the varieties in the process of seed production. In: Triticale: materials of the international scientific-practical conference “The role of triticale in stabilizing the grain and feeds production, and the utilization technologies”. 7–8 June 2016, Rostov-on-Don, Pt 1, p. 145–154 [in Russian] (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 // Тритикале: материалы международной научно-практической конференции «Роль тритикале в стабилизации производства зерна, кормов и технологии их использования», 7–8 июня 2016 г. Ростов-на-Дону, 2016. Ч. 1. С. 145–154).
- Peneva TI, Merezsko AF, Konarev AV (2009) Dynamics of the gliadin biotypes composition when creating the ‘Zolotoi Grebeshok’ variety of spring triticale. *Dokl. Russian Akad. Sel'skokhoz. Nauk* 1: 1–4 [in Russian] (Пенева Т.И., Мережско А.Ф., Конярев А.В. Динамика состава глиадиновых биотипов в процессе создания сорта яровой тритикале Золотой гребешок // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2009. № 1. С. 1–4).
- Peneva TI, Mitrofanova OP, Konarev AV (2002) Protein markers in the analysis of genetic stability of wheat varieties containing rye 1R chromatin. *Agrarnaya Russia* 3: 35–40 [in Russian] (Пенева Т.И., Митрофанова О.П., Конярев А.В. Белковые маркеры в анализе генетической стабильности сортов пшеницы, содержащих хроматин 1R ржи // Аграрная Россия. 2002. № 3. С. 35–40).
- Singh NK, Shepherd KW, McIntosh RA (1990) Linkage mapping of genes for resistance to leaf, stem and stripe rusts and ω-secalins on the short arm of rye chromosome 1R. *Theor. Appl. Genet.* 80 (5): 609–616. DOI: 10.1007/BF00224219