

УДК 633.112.9.«321»:631.523:576.316.7

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ КАРИОТИПОВ  
НЕКОТОРЫХ ФОРМ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ

А.А. ШИШКИНА, Е.Д. БАДАЕВА\*, А.А. СОЛОВЬЕВ

(Кафедра генетики)

Выполненное с использованием С-метода дифференциального окрашивания кариотипирование хромосом шести линий яровой гексаплоидной тритикале показало наличие форм с различными хромосомными наборами. У изученных образцов идентифицированы 2В/2D- и 2Н/20-замещения, транслокация T2RS.2RL/2BL и реципрокная транслокация T4BS.4BL/6BL : T6BS.6BL/4BL, перичентрическая инверсия в хромосоме 4В. Установлен высокий полиморфизм по рисункам дифференциального окрашивания у форм тритикале, имеющих 2R/2D-Замещение. Полученные данные могут быть использованы как при планировании селекционных программ, так и при рассмотрении эволюции кариотипа у тритикале.

**Ключевые слова:** гексаплоидная тритикале, транслокация, замещение, С-бэндинг.

Тритикале — синтезированная человеком культура, отличается высокими потенциальными возможностями увеличения урожайности, повышенным содержанием белка и незаменимых аминокислот (лизин, триптофан), что определяет ее пищевые и кормовые достоинства. Способность давать более стабильные в сравнении с пшеницей урожаи на менее плодородных почвах позволяет возделывать тритикале в условиях, непригодных для выращивания пшеницы [4, 11].

Будучи синтетической культурой тритикале сочетает в своем геноме хромосомы двух разных видов — пшеницы и ржи, что делает ее удобным объектом для изучения эволюционных процессов в кариотипах. Хромосомы, составляющие субгеномы тритикале, взаимодействуя между собой, подвергаются определенным модификациям: они могут замещаться хромосомами из

других субгеномов, участвовать в различных хромосомных перестройках — транслокациях, делециях, инверсиях [2, 6, 7, 15, 20].

Кариотип гексаплоидной тритикале, как правило, включает полные наборы хромосом А-, В- и R-субгеномов. У ряда вторичных форм гексаплоидной тритикале субгеном R ржи представлен не полностью, и может иметь место замещение хромосом ржи на гомеологичные хромосомы субгенома К пшеницы. Наиболее часто встречается замещение хромосомы 2R субгенома ржи хромосомой 2К мягкой пшеницы. Использование хромосомных замещений и транслокаций, направленных на уменьшение доли ржаного компонента кариотипа, позволяет преодолевать ряд недостатков, свойственных яровой тритикале и ограничивающих ее производственное использование. Так, с использованием транслокации

\* Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН.

была проведена модификация запасных белков у тритикале [23].

Замещение хромосом R-субгенома гомеологичными хромосомами субгенома K способствует стабилизации мейоза и приводит к значительному улучшению качества зерна тритикале [23, 24, 26, 27]. Процесс замещения хромосом происходит не случайным образом, а подчинен давлению отбора. В различных условиях произрастания отбираются разные варианты сочетаний хромосом исходных геномов [8]. Формы с 2R/2K-замещением по ряду признаков: уменьшение длины колоса, укороченное, выполненное зерно, более раннее созревание отличаются от незамещенных форм тритикале [10, 13].

Одним из основных методов, позволяющих проводить идентификацию пшеничных и ржаных хромосом, является дифференциальное окрашивание. Этот метод позволяет с высокой степенью надежности идентифицировать каждую хромосому кариотипа [2, 5, 7, 25].

Исследования кариотипов форм яровой тритикале важны для планирования селекционного процесса этой культуры. Возможности хромосомной инженерии в отношении тритикале представляются достаточно широкими в плане синтеза новых вариантов кариотипов. С-метод дифференциального окрашивания позволяет с высокой надежностью идентифицировать хромосомы субгеномов пшеницы и ржи в тритикале и выявлять крупные хромосомные перестройки.

Дифференциальное окрашивание имеет практическое значение. Оно позволяет идентифицировать хромосомы, и выявлять гетерохроматин, который влияет на развитие эндосперма и качество зерна [22, 25].

### Материал и методы

Материалом исследования служили 6 линий яровой гексаплоидной тритикале из коллекции кафедры генетики РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева.

Для двух линий имеются сведения о кариотипах: к-1185, имеет 2B<sub>1</sub>/2K-замещение [12], и 131/7, несет 2B<sub>1</sub>/2K-замещение и транслокацию T2RS.2RL-2BL [7]. Сортообразцы Арта 59, Лена 86, Лена 1270 и Л 8<sup>А</sup> созданы в результате межсортовых скрещиваний форм яровой тритикале.

Дифференциальное окрашивание хромосом проводили по стандартной методике, разработанной в институте Молекулярной биологии имени Н.А. Энгельгардта [3].

Кариотипы анализировали под микроскопом фирмы Leits — Krthoplan. Дифференциально окрашенные метафазные пластинки исследовали с использованием иммерсионного объектива 100<sup>x</sup> Arochromat, фотографировали цифровой камерой фирмы Leica KFC 280. Для составления кариотипа и редактирования фотоснимков использовали пакет программ Adobe Photoshop 7.0.

### Результаты и их обсуждение

В коллекции яровой тритикале кафедры генетики РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева разными методами показано наличие сортообразцов с различными хромосомными вариантами [6, 7, 9, 13, 18].

Исследования кариотипов линий яровой гексаплоидной тритикале с использованием С-метода дифференциального окрашивания хромосом выявили несколько хромосомных вариантов. Изучение кариотипа линии к-1185 показало, что он является гексаплоидным, 2n=42 (рис. 1). Субгеномы А и В пшеницы представлены полными наборами хромосом. Субгеном R ржи представлен только 6 парами хромосом — 1R, 3R, 4R, 5R, 6R, и 7R Пара хромосом 2R ржи замещена гомеологичной парой хромосом пшеницы 2K, что соответствует ранее полученным данным о наличии у линии к-1185 2R/2K-замещения [12]. Следует отметить, что данная линия является цитогенетически стабильной, о чем свидетельствуют результаты анализа кариотипа.



**Рис. 1.** Кариотип линии гексаплоидной тритикале к-1185. (Здесь и далее буквами А, В, R и D обозначены субгеномы тритикале, а цифрами 1-7 — гомеологические группы хромосом)

У этой линии не выявлено полиморфизма как по проявлению замещения, так и по рисунку дифференциального окрашивания.

Сортообразец 131/7 по результатам наших исследований запасных белков является достаточно полиморфным. Морфологическое изучение этого образца в полевых условиях позволило провести отбор ряда линий. В данной работе для кариотипирования использовали 3 сестринские линии: 131/7-197, 131/7-235 и 131/7-263. Установлено, что изучаемые линии наряду с 2В/2К-замещением и транслокацией T2RS.2RL/2BL, которые были ранее идентифицированы у исходного образца 131/7 [6], обладают полиморфизмом по рисунку дифференциального окрашивания (рис. 2). Основные отличия зак-

лючались в проявлении некоторых бэндов у гомологичных хромосом в разных линиях. Наиболее полиморфными оказались хромосомы 2А, 4А, 5А, 6А, 7А, 1В, 3В, 7В, 3R, 4R и 2К Линии 131/7-235 и 131/7-263 имели сходный рисунок дифференциального окрашивания хромосом. В то же время следует отметить, что у линии 131/7-263 хромосома 7 В заметно отличалась от гомологов двух других сестринских линий большей гетерохроматинизацией, а хромосома 3R — отсутствием теломерного блока в длинном плече. Присутствие у всех изученных сестринских линий замещения и транслокации, выявленных у исходного образца, свидетельствует о цитогенетической стабильности. В то же время выявленный полиморфизм по рисун-



Рис. 2. Кариотип линий гексаплоидной тритикале 131/7-263, 131/7-235 и 131/7-197

ку дифференциального окрашивания у сестринских линий свидетельствует о продолжении формообразовательного процесса. Это согласуется с многими литературными данными, в т.ч. и по изменению морфологии хромосом пшеницы и ржи в геноме тритикале [7, 15, 20].

Образец Л 8-4 расщепляется и имеет растения с разными кариотипами, среди которых встречаются как полнокомплектные (AABBRR) формы, так и формы с 2Б./2К-замещением (рис. 3). Кроме того, практически все хромосомы этого образца характеризуются высоким полиморфизмом гетерохроматиновых районов. Полиморфизм проявлялся не только в интенсивности окрашивания бэндов, но и в разных вариантах их проявления. Наиболее полиморфными являлись хромосомы 2А, 4А, 2В, 3В, 5В, 2К, 2R и 6R. Характер окрашивания длинных плеч 4В и 6В хромосом позволил установить наличие типичной для пшениц реципрокной транслокации T4BS.4BL/6BL и

T6BS.6BL/4BL, распространенной среди сортообразцов мягкой пшеницы [2]. Разнообразие кариотипов, выявленное у образца Л 8-4, обусловлено его происхождением. Данный образец получен от скрещивания между формами с замещением и без замещения. Отбор был проведен в ранних поколениях и к настоящему времени у этого образца продолжается формообразовательный процесс. Широкий по хромосомным вариантам размах изменчивости может служить основанием для большого разнообразия по морфологическим признакам. Включение в селекционный процесс линий с замещениями хромосом может обеспечить дополнительное разнообразие кариотипов и соответственно генотипов.

В кариотипах линий Арта 59 и Лена 1270 выявлена перичентрическая инверсия в хромосоме 4В (рис. 4, 5). Данная инверсия прицентромерного гетерохроматина в хромосоме 4В встречается у многих гексаплоидных видов пшеницы [2]. Данные образцы содер-

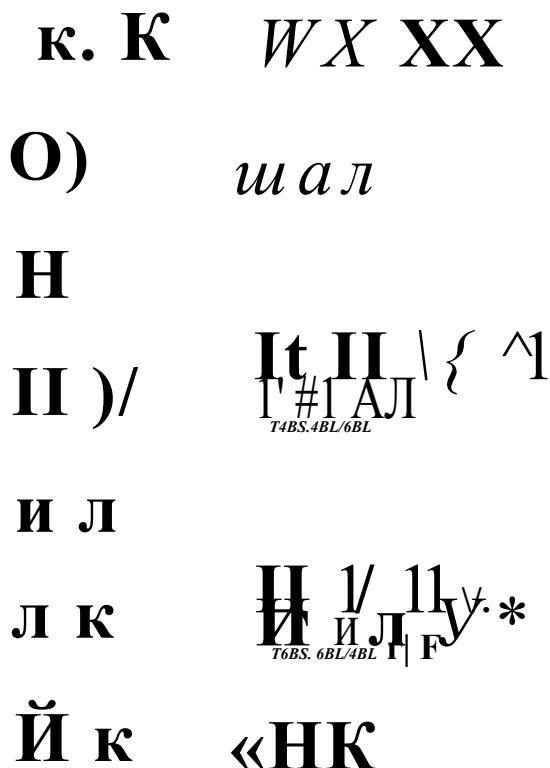


Рис. 3. Кариотип образца гексаплоидной тритикале Л 8-4

жат полные наборы хромосом пшеницы и ржи и являются полнокомплектными (AABBRR). Их общее происхождение отбором из одной гибридной популяции подтверждается сходными кариотипами. Следует отметить, что в кариотипах этих линий не выявлено полиморфизма по рисунку дифференциального окрашивания. Вероятно, это обусловлено нормальным прохождением конъюгации хромосом в мейозе и, как следствие, меньшим количеством нарушений и вариантов кариотипов.

У линии Лена 86 также установлен полный набор хромосом всех трех родительских геномов — D, V, и R (рис. 6). Она является цитогенетически стабильной и не содержит полиморфных участков хромосом, выявляемых ме-

тодом дифференциального окрашивания.

Полученные нами данные позволяют использовать кариотипы в качестве хромосомных паспортов исследованных линий, что можно учитывать при планировании селекционных программ по яровой тритикале. Сравнение кариотипов сортообразцов яровой тритикале с замещениями и без замещений свидетельствует о более широком формообразовательном процессе у форм, имеющих **2R/2K-3aMen<sup>^</sup>eHne**. В то же время пример линии к-1185, созданной в середине 80-х годов в СИММУТ, свидетельствует о цитогенетической стабильности замещенных линий. У новых линий с замещениями хромосом формообразовательный процесс длит-

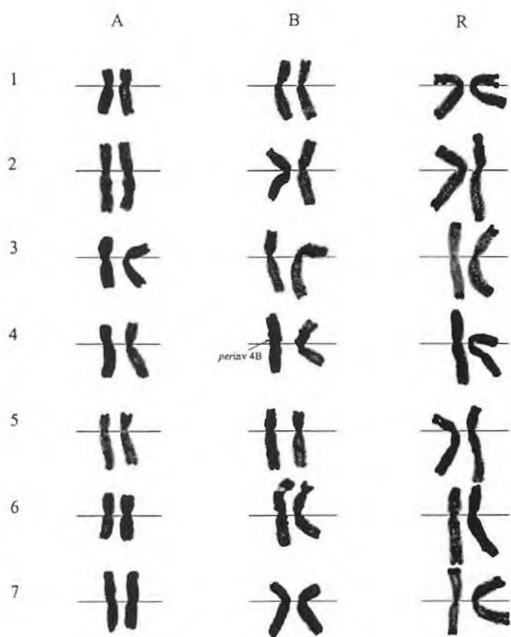


Рис. 4. Кариотип линии гексаплоидной тритикале Арта 59

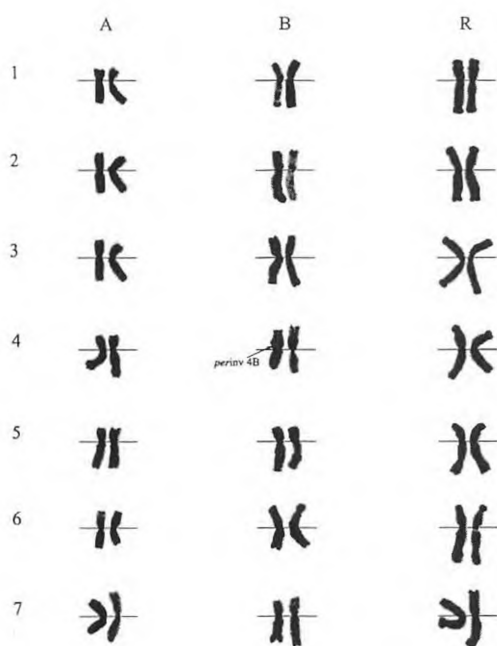


Рис. 5. Кариотип линии гексаплоидной тритикале Лена 1270

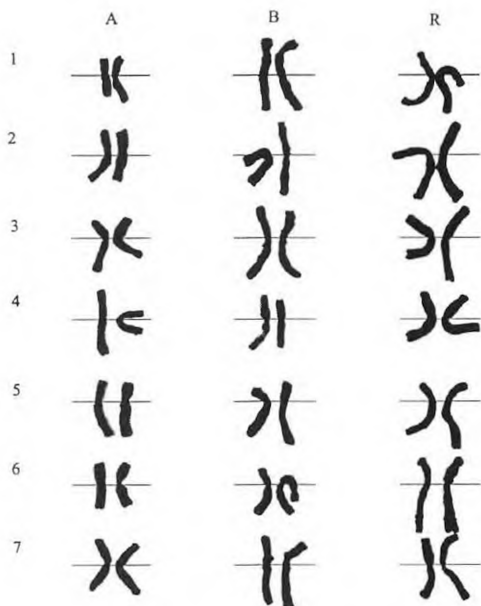


Рис. 6. Кариотип линии гексаплоидной тритикале Лена 86

ся более продолжительно в сравнении с незамещенными формами и сопровождается появлением как новых вариантов хромосом, так и хромосомных перестроек. В то же время у некоторых линий выявлены хромосомные перестройки, характерные для хромосом пшеницы, что, вероятно, обусловлено их присутствием у исходных сортов пшеницы, использованных при создании этих форм тритикале. Широкий формообразовательный процесс, выявленный при изучении ряда форм яровой тритикале, позволяет говорить об эволюционных преобразованиях у этой первой созданной человеком культуры, и может быть использован в модельных экспериментах по исследованию эволюции кариотипа.

### Библиографический список

1. *Бадаева Е.Д.* Изменение хромосом ржи в кариотипе тритикале. Автореф. дис. канд. биол. наук. М., 1984.
2. *Бадаева Е.Д.* Эволюция геномов пшениц и их дикорастущих сородичей: молекулярно-цитогенетическое исследование. Автореф. докт. дис. биол. наук. М., 2000.
3. *Большеева Н.Л., Бадаева Е.Д., Курочкина А.И., Бадаев Н.С.* Сравнение дифференциально окрашенных хромосом у двух родственных форм ржи // Генетика, 1984. Т. 20. С. 2025-2030.
4. *Грабовец А.И., Крозсмал А.В.* Итоги и особенности селекции озимой тритикале в условиях нарастания аридности климата // Тритикале в России. Материалы заседания секции тритикале РАСХН. Ростов-на-Дону, 2008. С. 54-61.
5. *Дедкова О.С.* Сравнительное филогенетическое исследование полиплоидных пшениц *T. dicoccum*, *T. spelta*, *T. aestivum* с использованием цитогенетических маркеров. Автореф. дис. канд. биол. наук. М., 2008.
6. *Дивашук М.Г.* Идентификация хромосомных транслокаций и замещений у некоторых форм яровой тритикале. Автореф. дис. канд. биол. наук. М., 2007.
7. *Дивашук М.Г., Карлов Г.И., Соловьев А.А.* Использование микросателлитных маркеров для идентификации пшенично-ржаной транслокации у гексаплоидной тритикале // Известия ТСХА, 2007. Вып. 1. С. 61-65.
8. *Дубовец Н.И., Сычева Е.А., Соловей Л.А., Штык Т.И., Зондаревич Е.Б.* Рекомбинантный геном злаков — закономерности формирования и роль в эволюции полиплоидных видов // Генетика, 2008. Т. 44 №1. С. 54-61.
9. *Карлов Г.И., Андреева Г.Н., Хрусталева Л.И., Соловьев А.А.* Характеристика линии тритикале, несущей пшенично-ржаную транслокацию // Сельскохозяйственная биотехнология. Изб. работы. М.: Воскресенье, 2000. Т. 1. С. 39-43.
10. *Куркиев К.У.* Наследование высоты растения у гексаплоидных форм тритикале с R/K замещением // Генетика, 2008. Т. 44 №9. С. 1238-1245.
11. *Максимов Н.Г.* Тритикале. Что это такое? Агротруд, 2004.
12. *Соловьев А.А.* Изучение формообразовательного процесса при скрещивании различных форм тритикале. Автореф. дис. канд. биол. наук. М., 2000.
13. *Соловьев А.А., Вишнякова Х.С.* Влияние 2И/2К-замещения на проявление некоторых признаков у гибридов F<sub>1</sub> тритикале // Доклады ТСХА, 1997. Вып. 268. С. 3-8.
14. *Сычева Е.А.* Исследование генетических эффектов межгеномных замещений хромосом в кариотипах тетраплоидных тритикале // Актуальные проблемы агрономии и пути их решения. Материалы научно-практической конференции. Вып. 1, Биологические основы адаптивного растениеводства. Ч. 2. Горки: БГСХА, 2005. С. 20-23.
15. *Alkhimova A.G., Heslop-Harrison J.S., Shchapova A.I. and Vershinin, A.V.* Rye chromosome variability in wheat-rye addition and substitution lines. // Chromosome Res, 1999. 7. P. 205-211.
16. *Badaeva E.K., Badaev N.S., Bolsheva N.L. and Zelenin A.V.* Chromosomal alterations in the caryotype of triticale in comparison with the parental forms. 1. Heterochromatin regions of R genome chromosomes // Theor. Appl. Genet., 1986. 72. P. 518-523.
17. *Bolsheva N.L., Badaeva E.K., Badaev N.S. and Zelenin A.V.* Chromosomal alterations in the caryotype of triticale in comparison with the parental forms. 2. Heterochromatin of the wheat chromosomes // Theor. Appl. Genet., 1986. 73. P. 66-71.
18. *Kivashuk M.G., Soloviev A.A.* Morphological and cytogenetic characterization of translocated spring triticale line 131/7 // Acta Agriculturae Serbica, 2005. Vol. X. № 19. P. 17-25.
19. *GiU B.S., Kimber G.* Giemsa C-banding and the evolution of wheat // Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1974. Vol 71. №10. P. 4086-4090.

20. *Gustafson J.P. and Bennett M.K.* Preferential selection for wheat-rye substitutions in 42-chromosome triticale // *Crop Sci.*, 1976. Vol. 16. P. 688-693.

21. *Hasemann C.U., Pfeiffer-Schad B. and, Martin J.* Cytogenetic investigations in wheat, rye and triticale. 2. Extent of heterochromatin polymorphism in cultivars and inbred lines of rye (*Secale cereale* L.) // *Plant Breeding*, 1987. 98. P. 297-305.

22. *Kaltsikes P.J., Gustafson J.P.* The heterochromatin story in triticale. // *Genetics and breeding of triticale*, EUCARPIA meeting, Clermont-Ferrand (France). — INRA, Paris, 1985.

23. *Lukaszewski A.J.* Manipulation of the 1RS.1BL translocation in wheat by induced homeologous recombination // *Crop Sci.*, 2000. 40. P. 216-225.

24. *Merker A.* Chromosome composition of hexaploid triticale // *Hereditas*, 1975. V.80. T. I P. 41-52.

25. *Seal A.G.* C-banded wheat chromosomes in wheat and triticale // *Theor. Appl. Genet.*, 1982. 63. P. 39-47.

26. *Taketa S., Nakazaki S., Shigenaga S., Yamagata H.* Preferential occurrence of specific R-K chromosome constitution in stable hexaploid progenies of the hybrid between hexaploid triticale and bread wheat // *Jpn. J. Genet.*, 1991. 66. P. 587-596.

27. *Zhi-Jun C., Murata M.* Loss of chromosome 2R and 5RS in octoploid triticale selected for agronomic traits // *Genes Genet. Syst.* 2002. 77. P. 23-29.

*Рецензент – д. б. н. В.И. Глазко*

#### SUMMARY

The karyotyping of chromosomes carried out with the method of Giemsa C-banding for the six lines of spring triticale showed the existence of the forms with various chromosome sets. The studied specimen showed the existence of 2B/2K-, 2R/2K- substitution, T2RS.2RL/2BL translocation and T4BS.4BL/6BL:T6BS.6BL/4BL reciprocal translocation and also pericentric inversion in the chromosome 4B. The high polymorphism is found on the base of the pictures of Giemsa C-banding of the forms of triticale with 2R/2K substitution. The data received can be used in the planning of breeding programs and in the studying evolution process of the karyotype of triticale.

**Key words:** hexaploid triticale, translocation, substitution, C-banding.