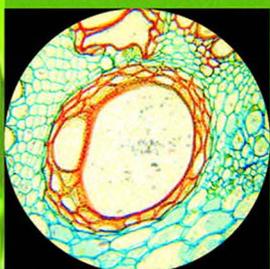


ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

ТОМ **2**



Частная
генетика
растений

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Институт генетики и цитологии

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

В четырех
томах

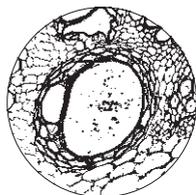


Минск
«Беларуская навука»
2010

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Институт генетики и цитологии

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

ТОМ **2**



Частная
генетика
растений



Минск
«Беларуская навука»
2010

УДК 631.52

Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 2. Частная генетика растений / науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск : Беларус. навука, 2010. – 579 с. – ISBN 978-985-08-1127-1.

Настоящий коллективный труд, подготовленный учеными Белорусского общества генетиков и селекционеров, выходит с 2008 г. и посвящен обобщению опыта применения генетических методов в совершенствовании частной селекции растений.

Во втором томе проведен анализ вопросов частной генетики наиболее изученных в республике культур по таким направлениям, как наследование признаков, использование генетических и биотехнологических методов в селекции, совершенствование методов селекции на основе генетических подходов. В монографию вошли обзоры по зерновым (пшенице, тритикале, ржи), картофелю, техническим (льну, сахарной свекле), зернобобовым (сое, люпине), овощным (томате), плодовым, лесным культурам.

Рассчитана на научных работников в области генетики и селекции растений, преподавателей и студентов биологических и сельскохозяйственных вузов, специалистов сельского хозяйства.

Табл. 118. Ил. 86. Библиогр.: 1208 назв.

Научные редакторы:

доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент А. В. Кильчевский,
доктор биологических наук, профессор, академик Л. В. Хотылева

Рецензенты:

доктор биологических наук, профессор, академик В. Н. Решетников,
доктор биологических наук, профессор, академик Н. А. Ламан

*Издание подготовлено при участии
Белорусского общества генетиков и селекционеров*

ISBN 978-985-08-1127-1 (т. 2)
ISBN 978-985-08-0990-2

© Институт генетики и цитологии, 2010
© Оформление. РУП «Издательский дом
«Беларуская навука», 2010

ПРЕДИСЛОВИЕ РЕДАКТОРОВ

Уважаемый читатель! Второй том коллективной монографии «Генетические основы селекции растений» посвящен проблемам частной генетики растений. При этом мы следовали логике издания классического трехтомника «Теоретические основы селекции растений» (ред. Н. И. Вавилов), второй и третий тома которого освещают вопросы частной селекции растений.

Селекционный процесс в Беларуси выполняется по большому набору сельскохозяйственных, декоративных и лесных растений. В этом процессе активно участвуют сотрудники ряда институтов и вузов республики. Мы не ставили перед собой задачу дать полную сводку работ по селекции всех культур, поскольку разработка генетических основ селекционного процесса каждого из растений находится на разном уровне. В связи с этим в коллективную монографию вошли статьи сотрудников тех учреждений, где накоплен достаточный опыт разработки и применения генетических методов в селекционном процессе (Института генетики и цитологии, НПЦ по земледелию, НПЦ по картофелеводству и плодоовощеводству, Института леса, Белорусской сельскохозяйственной академии). Этим и обусловлен выбор культур.

Нашей задачей было отразить состояние частной генетики наиболее изученных культур по таким вопросам, как наследование хозяйственно ценных признаков; использование в селекции генетических методов (гетерозиса, мутагенеза, полиплоидии, отдаленной гибридизации и др.), биотехнологических методов (культур *in vitro*, гаплоидии, клеточной и гаметной селекции, молекулярных маркеров, трансгеноза); совершенствование методов селекции на основе генетических подходов; создание уникального исходного материала; реальные селекционные достижения по сельскохозяйственным культурам в Беларуси.

Надеемся, что опыт применения генетических методов и подходов в селекции растений будет полезен для селекционеров, работающих как с рассмотренными в данной монографии, так и с другими культурами, по которым ведется селекционный процесс в Беларуси и за ее пределами.

*А. В. Кильчевский,
Л. В. Хотылева*

Глава 1

ПШЕНИЦА

Согласно археологическим данным, пшеница относится к одному из первых окультуренных растений. Более 8 тыс. лет назад пшеница и ячмень стали наиболее важными культурами для питания людей. Пшеница являлась и продолжает оставаться по сей день главным хлебным злаком для человечества и широко возделывается от северных полярных районов до южных пределов всех 5 континентов [1]. В северном полушарии – это основная зерновая культура, особенно в степных и лесостепных районах с умеренным климатом. В России и большинстве стран СНГ пшеница занимает одно из первых мест в мире по размеру посевных площадей и производству зерна. В зарубежных странах наибольшие площади под пшеницей заняты в США, Индии, Канаде, Турции, Австралии, Аргентине, Франции, Италии.

Производство зерна пшеницы высокого качества для хлебопечения, макаронных и кондитерских изделий – исключительно важная и актуальная задача для Беларуси. В последние годы площади этой культуры постоянно расширялись и в настоящее время достигли 0,5 млн га, что обеспечивает полную потребность населения в продовольственном зерне собственного производства. Исключительная народнохозяйственная значимость этой культуры определила особый интерес к ее изучению со стороны биологов, генетиков и селекционеров.

Селекционерами создано много выдающихся сортов яровой и озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L., $2n = 42$). В качестве примеров можно привести: Безостую 1 (П. П. Лукьяненко), Мироновскую 808 (В. Н. Ремесло), Саратовскую 29 (А. П. Шехурдина) и др. Множество высокоценных сортов яровой и озимой мягкой пшеницы создано в зарубежных странах [1]. С привлечением источников западноевропейского экотипа методом гибридизации созданы и включены в Госреестр сортов Республики Беларусь новые высокопродуктивные сорта озимой пшеницы: Былина, Завет, Саната, Щара, Узлёт, Спектр, Сюита, Уздым, Канвеер, а также яровой: Виза, Росстань, Дарья, Рассвет, Тома, Сабина.

В основе достижений селекционеров лежат, как правило, генетические исследования. Теоретические обобщения и экспериментальные работы исследователей во главе с Н. И. Вавиловым [2–8], наряду с исследованиями зарубежных ученых [9, 10], раскрыли многие закономерности возникновения рода пшеницы (*Triticum* L.), создания многообразия форм, биологии их развития, наследования признаков, полиплоидии, мутационной изменчивости и др. Генетиками разработаны пути разностороннего изучения исходного материала, предложены мето-

ды, позволяющие привлекать новые виды и роды растений в селекцию с целью переноса генетического материала от одних видов к другим – замены или дополнения геномов, замены или удаления хромосом или отдельных генов.

Так, А. Р. Жебрак провел исследования по важному явлению в генетике – полиплоидии [3, 4]. Его работы по изучению и экспериментальному получению полиплоидных форм пшеницы стали важным этапом в развитии генетики, позволили заложить генетические основы нового направления в цитогенетике и селекции пшениц. За сравнительно короткий срок А. Р. Жебраку удалось не только ресинтезировать 42-хромосомный вид пшеницы, но и создать новые, не существовавшие ранее в природе, 42-, 56- и даже 70-хромосомные типы пшениц. Им были проведены оригинальные на то время работы по созданию пшенично-ржаных гибридов, которые совмещали два гаплоидных набора двух видов пшениц (*T. turgidum* и *T. timopheevii*, $2n = 56$) и один гаплоидный набор ржи (*Secale cereale*, $2n = 14$). В последующие годы были разработаны новые методы создания пшенично-ржаных (тритикале) и ржано-пшеничных (секалотритикум) гибридов. В настоящее время уже создано много высокоурожайных сортов тритикале, в том числе и в ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» [11].

Современные генетические исследования направлены на обеспечение селекции более эффективной научной основой для ускоренного создания новых высокоурожайных, ценных по качеству и устойчивых к болезням сортов и гибридов. Активно развиваются такие направления исследований по пшенице как генетика онтогенеза, цитогенетика, биохимическая и молекулярная генетика. Все шире в исследование пшениц внедряется методология хромосомной и генетической инженерии.

В исследованиях белорусских ученых также большое внимание уделяется пшенице: изучаются проблемы мутагенеза, полиплоидии, качества зерна, устойчивости к фитопатогенам и др. Используются такие современные методы, как моносомный анализ, ДНК маркерный анализ, дигаплоидия и др. Ведется активная селекционная работа как с яровой, так и с озимой мягкой пшеницей.

1.1. Экспериментальный мутагенез

Экспериментальный мутагенез как метод получения новых форм организмов известен довольно давно. Впервые возможность искусственного получения наследственных изменений у живых организмов под действием ионизирующего излучения была открыта на дрожжах в 1928 г. учеными Г. А. Надсоном и Г. С. Филипповым. К началу 1980-х годов в мире были получены уже сотни мутантных сортов растений [12]. Пшеница как основная продовольственная культура оказалась одним из первых объектов для экспериментального получения мутаций.

Приоритет в использовании ионизирующих излучений для получения новых ценных форм у пшеницы принадлежит советским ученым генетикам Л. Н. Делоне (1928) и А. А. Сапегину (1934). Они выделили ряд мутантов пшеницы, которые по жизнеспособности и плодовитости превосходили исходные сорта.

1.1.1. Получение и характеристика мутантных форм

Специфичность реакции сортов сельскохозяйственных растений на мутагенные воздействия установлена многими авторами [13, 14]. Показано, что разные сорта одной и той же культуры обладают неодинаковой радиочувствительностью и мутабельностью, характеризуются разными спектрами возникающих мутаций. В ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» в 1970-х годах проводилось сравнительное изучение мутационной изменчивости 81 образца яровой пшеницы из коллекции ВИР после облучения γ -лучами Co^{60} [15]. Учитывали во втором поколении 14 признаков, в том числе форму и окраску колоса, остистость, прочность и длину соломины, кустистость и др. Вся коллекция состояла из 35 видов и 10 разновидностей пшениц. Были получены данные о мутабельности сортов, входящих в состав 9 разновидностей. Спонтанное мутирование наблюдали у сортов и разновидностей *erythrosperrum* (2,2%), *milturum* (0,65%), *lutescens* (0,25%) и *ferrugineum* (0,17%).

После облучения сорта из разновидностей со спонтанной изменчивостью показали значительное увеличение числа особей с измененным фенотипом. Так, у сортов разновидности *erythrosperrum* изменчивость возросла более чем в 2 раза, а у *milturum* – более чем в 4 раза. В то же время у сортов из разновидностей *albidum*, *velutinum*, *rufinflatum* мутантных изменений по изученным признакам не выявлено [15].

Как известно, классические методы учета частоты мутаций у растений основаны на отборе в M_2 особей, измененных по фенотипу. Однако их фенотипическое проявление происходит не только в M_2 , но и в последующих поколениях. К тому же не все выделенные измененные формы являются результатом наследственных изменений генетического материала, а могут возникать в результате модификационных перестроек, которые сохраняются при пересеве на следующий год.

В связи с этим представляло интерес изучить выщепление мутантных форм пшеницы в ряду поколений после их отбора в M_2 . С этой целью в M_2 -поколении были отобраны особи с морфологическими изменениями формы колоса (спельтоиды, скверхеда, веретенообразный, булавоподобный и др.), формы куста, размера колоса и соломины, кустистости, остистости, а также с изменением окраски колоса и соломины – всего 176 форм, различающихся по 15 признакам. Измененные формы получены на сорте Тулун 70 после облучения сухих семян γ -лучами, доза 10 кр, мощность источника 1932 р/мин [16].

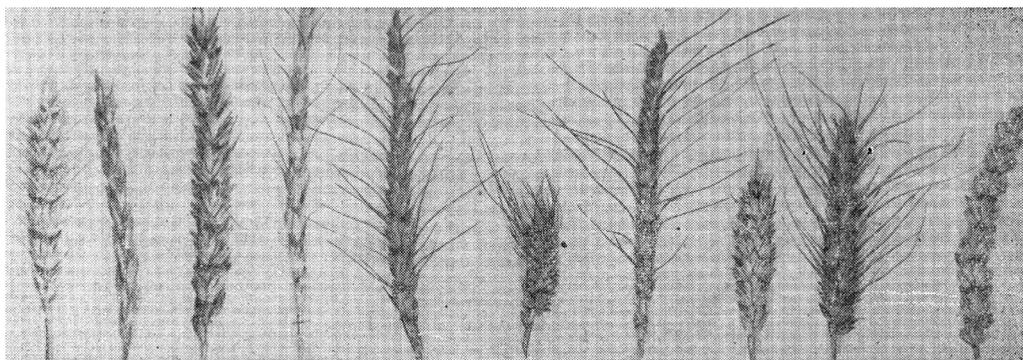
В результате многолетнего эксперимента был исследован процесс стабилизации мутационных изменений. Детально рассмотрен характер наследования мутантных признаков до десятого поколения после отбора мутантных форм в M_2 . Показано, что в первых четырех-пяти генерациях мутантные формы являются нестабильными. В этот период наблюдается сложный характер расщепления. В то же время количество константных мутантных семей ежегодно увеличивается и достигает максимума к восьмому поколению. Сравнительное изучение частот образования константных мутантных линий в потомствах от свободного пере-

опыления и принудительного самоопыления выявило преимущество изолированного размножения мутантов в течение всего периода их стабилизации. Срок стабилизации сокращается на 2–3 года.

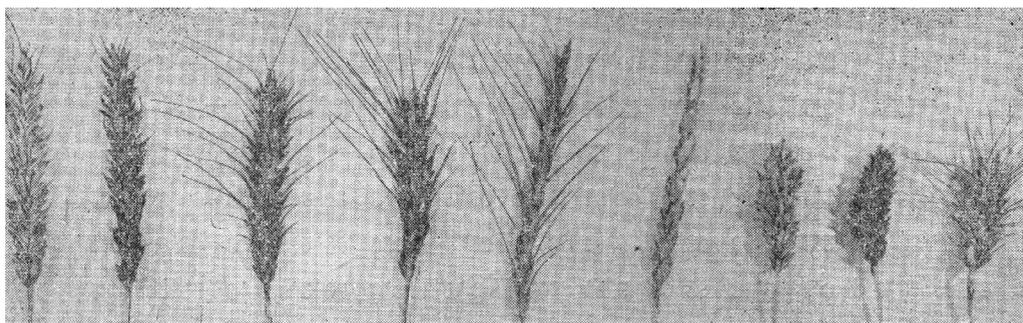
Среди большого разнообразия мутантов, прошедших длительную стабилизацию, были выделены и детально изучены перспективные для селекции мутанты. Из яровой пшеницы сорта Тулун 70 было выделено и детально охарактеризовано 6 мутантов (МТ-1, МТ-2, МТ-3, МТ-4, МТ-5, МТ-6), и 3 мутанта (МЛ-1, МЛ-4, МЛ-11) – из сорта Лютесценс 62. На рис. 1.1 показан спектр типов колоса у мутантов яровых пшениц Тулун 70 и Лютесценс 62. Как видно, мутанты различаются по окраске, форме и строению колоса, остистости, форме цветочных и колосковых чешуй и др.

Наряду с изучением морфологических особенностей, проводились исследования продуктивности и биохимических качеств зерна. Оказалось, что мутанты по многим показателям превосходили стандартный сорт Минская. Так, по продуктивной кустистости имели преимущество МТ-6, МТ-1, МТ-4, МТ-8, МЛ-11, по числу колосков в колосе – МЛ-11, МТ-6, по числу зерен в колосе – МТ-6, МТ-4, МЛ-4. По основному показателю – весу зерна со всего растения – почти все мутанты (кроме МЛ-1 и МТ-1) имели явное преимущество перед стандартом.

Известно, что пищевая ценность зерна пшеницы определяется количеством и качеством белка. Обычно содержание общего белка в пшенице колеблется от



a



б

Рис. 1.1. Спектр мутантных колосьев, полученных на сорте: *a* – Тулун 7; *б* – Лютесценс 62

11,2 до 24,4% и зависит от ряда факторов: генотипа, места произрастания, применяемых удобрений, урожая, метеорологических условий. В результате многолетних исследований 10 лучших мутантов яровой пшеницы получена обширная информация о зависимости биосинтеза белка от генотипа мутанта, а также от специфичности их реакции на меняющиеся условия среды. Так, наилучшими по накоплению белка были МТ-12, МТ-3, МЛ-11, МТ-2, поскольку в среднем за 5–6 лет в зерне этих форм накапливалось 19,13, 19,25, 19,72, 19,98% белка соответственно.

Пищевая ценность зерна злаковых культур определяется не только количеством суммарного белка, но и содержанием аминокислот, в особенности таких незаменимых, как лизин и триптофан. По данным литературы [17], содержание лизина в суммарных белках пшеницы колеблется от 2,5 до 3,4%. Изучение аминокислотного состава белков мутантных линий выявило некоторые, иногда существенные различия по содержанию отдельных аминокислот. Так, в зерне мутанта МТ-4 лизина накапливалось на 10%, фенилаланина – на 13,4, метионина – на 16,3, лейцина – на 10,9% больше, чем у стандарта. Содержание лизина у мутантов колебалось от 2,01 до 3,29%. Самый высокий уровень накопления данной аминокислоты наблюдался у МТ-2 (3,29%). Некоторые из мутантов яровой пшеницы отличались высоким урожаем белка с 1 га, высоким содержанием и качеством клейковины. Мутанты МЛ-11 и МЛ-19 были переданы в государственное сортоиспытание. К сожалению, из-за недостаточной селекционной проработки они не были районированы.

1.1.2. Синтетические популяции мутантов

Исследования ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» были направлены также на использование создаваемых мутантных форм пшеницы для формирования синтетических популяций мутантных линий с целью повышения урожайности этой культуры [18]. Перспективными приемами увеличения гетерозисности пшеницы могут быть методы, опирающиеся на естественный процесс перекрестноопыляемости. Один из путей оптимального сочетания само- и перекрестного опыления пшеницы и достижения максимального проявления эффекта гетерозиса – создание синтетических популяций, состоящих из линий с хорошей общей комбинационной способностью.

Необходимость предварительной оценки комбинационной способности всех компонентов, входящих в состав будущей популяции, хорошо обосновали Н. В. Турбин и О. О. Кедров-Зихман [19]. Ими показано, что компонентами синтетического сорта могут быть только линии, которые хорошо объединяются друг с другом во всех комбинациях скрещивания.

Одним из наиболее надежных способов оценки комбинационной способности пшеницы является метод диаллельных скрещиваний с последующим испытанием гибридного потомства. Система диаллельных скрещиваний широко применяется для изучения общей (ОКС) и специфической (СКС) комбинационной способности у сортов пшеницы по основным элементам продуктивности, высоте растений, срокам созревания и т. п. [20].

Для изучения комбинационной способности у мутантов пшеницы был использован также метод диаллельных скрещиваний. Было сформировано четыре группы аллельных мутантов яровой пшеницы: белые безостые, белые остистые, красные остистые и красные безостые, в которых было получено 15, 28, 15 и 10 гибридных комбинаций соответственно. Данные, полученные для гибридов, были включены в дисперсионный комплекс с целью проверки нулевой гипотезы об отсутствии генотипических различий между ними. Анализ показал, что по изученным признакам (число зерен колоса и масса зерна с растения) во всех четырех группах имелись достоверные различия между гибридами, полученными с участием мутантов (при $P < 0,01$), а также между мутантными линиями по общей и специфической комбинационной способности.

Результаты анализа эффектов общей комбинационной способности легли в основу формирования синтетических популяций. Кроме того, положительные свойства ряда мутантов (высокая комбинационная способность, высокая продуктивность, неполегаемость, раннеспелость и др.) позволили передать пять полученных новых форм яровой пшеницы в коллекцию Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н. И. Вавилова (ВИР). Два радиационных мутанта пшеницы были включены в основной каталог К-56423 (МЛР-3) и К-56424 (МЛР-4).

Следующий этап работы состоял в изучении продуктивности созданных четырех синтетических популяций мутантов (СПМ). Популяции включали следующие компоненты (мутанты):

СПМ1 – МЛН-10, ММ-6, МЛ-11, МТ-14, МЛР-3;

СПМ2 – МЛН-13, ММ-1, МЛР-6, МЦ-6, МА-1;

СПМ3 – МЛН-9, МЛР-4, МЦ-4;

СПМ4 – МЛР-9, МЦ-1, МА-6.

Оценку продуктивности проводили со следующего года после первичного посева механической смеси. Урожайность популяции сравнивали с продуктивностью стандарта сорта Ленинградка, продуктивностью первоначальной механической смеси мутантов, входящих в состав популяции и исходных сортов, на которых были получены мутанты. Наряду с урожайностью проводилась оценка устойчивости к полеганию.

Наиболее интересные результаты получены по СПМ2. Было показано, что все мутантные линии по продуктивности существенно уступают стандарту, также как и исходные сорта, на которых мутанты были получены. Однако урожайность СПМ2 оказалась более высокой, чем стандарта и составила 127,5%. Почти в 1,5 раза ее средняя урожайность была выше мутантных линий. В целом синтетическая популяция мутантных линий СПМ2 оказалась более урожайной по сравнению со всеми компонентами и формами, проанализированными в опыте. В популяции СПМ3 также получены, хотя и менее значимые, но положительные результаты. Что касается СПМ1 и СПМ4, то мутанты сами по себе имели довольно высокую продуктивность, как правило, превышающую продуктивность исходных сортов. Вероятно, это обстоятельство явилось основной причиной того, что урожайность данных популяций была на уровне стандарта.

Таким образом, проведенные исследования убедительно подтвердили перспективность метода создания синтетических популяций на основе аллельных мутантов с хорошей комбинационной способностью.

Синтетическая популяция СПМ2 испытывалась в конкурентном сортоиспытании в течение двух лет. За это время СПМ2 превзошла по урожайности стандартный сорт Ленинградка в среднем на 20,7%. С помощью разработанного метода были созданы еще две высокопродуктивные популяции из лазерных мутантов яровой пшеницы [18].

1.1.3. Индуцированная генетическая нестабильность

Многолетние исследования мутационной изменчивости зерновых культур – яровой и озимой пшеницы и ячменя позволили выявить явление генетической нестабильности и достаточно убедительно показать, что этот тип наследственной изменчивости носит индуцированный характер [21]. Под влиянием высоких доз ионизирующей радиации возникают не только мутационные изменения, связанные с разными типами хромосомных перестроек, но и изменения, касающиеся нарушений процессов митотического и мейотического деления клеток.

Отличие мутационной изменчивости от изменчивости, связанной с индукцией генетической нестабильности, состоит в характере наследования измененных признаков. При индукции мутаций последние устойчиво передаются потомкам, а у генотипов, обладающих генетической нестабильностью, в течение длительного срока параллельно происходят два процесса. С одной стороны, наблюдается расщепление в пределах одной семьи, а с другой – в каждом очередном поколении постепенно увеличивается число особей, наследующих измененный признак, отобранный в предыдущих поколениях. Иными словами, у потомков от нестабильных генотипов идет формирование стабилизированных по определенному признаку линий, выщепившихся в предыдущих поколениях. Отмеченные свойства нестабильных генотипов представляют определенную ценность для селекции, так как от одного исходного сорта в период стабилизации можно получить более широкий спектр измененных сублиний.

В связи с обнаружением явления индукции генетической нестабильности была поставлена задача доказать всеобщность этого явления, а также определить специфические особенности проявления нестабильности в период всего срока стабилизации выщепившихся линий и сублиний. Необходимо было понять природу этого явления и выяснить возможные механизмы его индукции и проявления, установить принципиальные отличия изменчивости растений, связанные с мутагенезом и генетической нестабильностью.

При формировании теоретической модели индукции нестабильности исходили из предположения, что под действием радиации происходит изменение функций регуляторных систем, обеспечивающих нормальное деление как половых, так и соматических клеток [21, 22]. Лабильное состояние этих систем, по-

видимому, приводит к искажению информации, направленной на типизацию межхроматидных кроссоверных хромосом, т. е. на тот механизм, который обеспечивает сохранность у растений фенотипической и генетической однородности потомства. У генотипов с лабильным состоянием регуляторных систем межхроматидные обмены могут происходить не только в эволюционно закрепленных, но и в любых других точках, в которых такой обмен ранее не происходил. В точке можно ожидать изменения информации на соответствующий признак, что и наблюдается при выращивании потомств от нестабильных генотипов. Реальность такой модели четко проявляется при посемейственном анализе потомств от генотипов, обладающих свойством генетической нестабильности.

При построении теоретической модели индукции и проявления нестабильности принимали во внимание следующие моменты: во-первых, нестабильность не является следствием переопыления, так как в сестринских самоопыленных линиях она проявлялась с равной частотой; во-вторых, нестабильность обнаруживается в пределах одной семьи, которая должна обладать консерватизмом наследственности; в-третьих, механизм деления соматических и половых клеток эволюционно закреплен, находится под контролем генома и обеспечивает фенотипическую однородность потомства; в-четвертых, нестабильность связана с нарушением систем, обеспечивающих указанную типичность, а стабилизация – с постепенным восстановлением нормальных функций этих систем.

На основании перечисленных положений сделан вывод, что мутагенный фактор действует не только на хромосомный аппарат, вызывая обычные мутации, но и на регуляторные системы. Следствием этого может быть неконтролируемое перемещение точек межхроматидных обменов с традиционных мест в иные части конъюгирующих хромосом.

С помощью этой модели можно удовлетворительно объяснить многообразие процессов, сопровождающих проявление нестабильности от момента индукции до завершения стабилизации и в более поздний период.

Экспериментальное подтверждение данной модели было получено с помощью метода дифференциальной окраски хромосом и анализа сестринских хроматидных обменов (СХО) [22]. Было проведено сравнительное изучение константных (МЛР-2 и МС63-8а) и нестабильных (МЛР-11 и МС63-8б) мутантов, полученных на сортах Lerma Rojo (МЛР) и Sonora 63 (МС). При анализе дифференциально окрашенных хромосом исходных сортов установлено, что они имеют характерный для гексаплоидных пшениц кариотип с небольшими особенностями у некоторых хромосом. Полиморфизм гетерохроматиновой структуры у исходных сортов меньше, чем у мутантов, и в основном заключается в изменении числа, локализации гетерохроматиновых сегментов (ГХ) и их размеров. Методом анализа СХО было установлено, что нестабильные генотипы имеют примерно в 2–2,5 раза больше СХО на одну условную хромосому по сравнению с исходным сортом. Новые точки СХО у нестабильных мутантов, по-видимому, могут также индуцировать нетипичные точки кроссинговера у этих мутантов в мейозе.

Таким образом, предложенная модель достаточно хорошо отражает те процессы, которые сопровождают индукцию и проявление генетической нестабильности, в основе которой лежит механизм рекомбинаций.

Следующий этап исследований был направлен на разработку методов селекции с привлечением нестабильных генотипов.

На основании анализа характера наследования качественных признаков у мутантно-сортовых гибридов с F_1 по F_4 удалось показать изменчивость таких гибридов не только в первых двух, но и в третьем–четвертом поколениях [23]. Установлено, что спектр изменчивости, особенно в F_3 , зависит от мутантного фенотипа, вовлекаемого в скрещивание. Эта зависимость очень четко видна на примере гибридов от двух комбинаций скрещивания нестабильных мутантов МЛ-4 (красный остистый компактоид) и МТ-10 (черный остистый спельтоид) с сортом Ленинградка. Эти комбинации взяты в связи с тем, что каждый из гибридов в F_2 расщепляется на 12 фенотипических классов. Анализ потомства каждого из этих классов в F_3 показал, что большинство из них продолжает расщепляться, причем размах изменчивости в потомстве разных генотипов укладывается в 2–8 фенотипических класса в комбинации МЛ-4 × Ленинградка и в 2–7 фенотипических класса в комбинации МТ-10 × Ленинградка. В результате такого расщепления в обеих комбинациях в F_3 образовалось 37 фенотипических классов, из которых 15 и 19 не повторяют друг друга.

Эти данные убедительно свидетельствуют о преимуществах мутантно-сортовой гибридизации для расширения спектра исходного селекционного материала при использовании мутантов, обладающих ярко выраженной индуцированной генетической нестабильностью.

1.2. Генетический анализ пшеницы с использованием анеуплоидов

1.2.1. Создание серии моносомных линий у мягкой пшеницы сорта Опал и ее генетический анализ

В селекционно-генетических исследованиях пшеницы большое внимание уделяется использованию анеуплоидных форм. По ряду причин полиплоидные культуры являются трудными объектами для детальных генетических анализов. Большое число хромосом и наличие многочисленных групп сцепления затрудняют локализацию генов и установление генетической функции отдельных хромосом. Вместе с тем высокий уровень пloidности позволяет использовать механизмы взаимной компенсации для сложных цитогенетических манипуляций и получения жизнеспособных анеуплоидных форм. Хотя сами по себе анеуплоиды, как правило, не отличаются селекционно значимыми достоинствами, их использование сделало мягкую пшеницу одним из наиболее исследованных растений с генетической точки зрения. На основе стандартных серий анеуплоидных линий сорта Chinese Spring, созданных Е. Сирсом [24, 25], получены аналогичные серии на других сортах мягкой пшеницы. Практически они могут быть созданы для любого сорта, представляющего интерес для генетиков и селекционеров. Использование анеуплоидных серий дало возможность осуществлять замещение

или добавление отдельных хромосом и даже целых геномов, способствуя повышению эффективности селекционной работы. К настоящему времени с их помощью изучены и установлены функции отдельных хромосом, локализованы гены, отвечающие за хозяйственно ценные признаки, изучены эффекты дозы гена на развитие определенных признаков, проводятся межсортовые и чужеродные замещения путем введения хромосом, несущих желаемые признаки [26–30].

В процессе работы по изучению генетики пшеницы в ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» создана оригинальная серия моносомных линий у сорта Опал, выделившегося при испытании коллекции отечественного и зарубежного селекционного материала по ряду хозяйственно ценных признаков [31]. Создание серии сопровождалось постоянным цитологическим контролем числа хромосом каждого растения (всего проанализировано более 10 тыс. растений). Кроме того, проводился цитологический анализ мейоза у растений F_1 и беккроссов для исключения возможной смены унивалента, а также было исследовано влияние генотипа на частоту функционирующих 20- и 21-хромосомных гамет [32].

Генетическое и цитологическое изучение серии моносомных линий у сорта Опал способствовало получению данных о генетической нагрузке его хромосом, что позволило выделить линии, которые рекомендованы для использования в работе по замещению критических хромосом. Серия зарегистрирована в Европейском объединении по анеуплоидии пшеницы (EWAC) и передана в научные учреждения и селекционные центры стран СНГ для использования в селекционно-генетических исследованиях.

Изучению подвергались признаки, связанные непосредственно с продуктивностью растений: высота растения, число и длина междоузлий, продуктивная кустистость, длина и ширина флагового листа, частота и размеры устьичного аппарата, длина колоса, число колосков в колосе, плотность колоса, число и масса зерен колоса, масса 1000 зерен; а также время колошения, выполненность соломины, устойчивость к полеганию, опушение, окраска и длина влагалища флаг-листа, наличие и степень выраженности лигулы и ушек, частота и размеры устьиц [33, 34]. Кроме того, исследована роль ядра и цитоплазмы в генетическом контроле количественных признаков пшеницы.

Для установления генетической функции отдельных хромосом анализировали моносомные линии Опал в сравнении с дисомными (эуплоидными) растениями. В результате оценено влияние гемизиготного состояния каждой хромосомы на выраженность ряда признаков (табл. 1.1).

Нехватка одной хромосомы в большинстве случаев оказывает негативное влияние на фенотипическое проявление признака, в большей степени минус-эффект выражен у признаков продуктивности колоса. Установлено, что наиболее сильное влияние на исследуемые признаки оказывают хромосомы D-генома. Например, моносомия по 2D хромосоме сказывается на развитии 12 из 20 изученных признаков и только в двух случаях вызывает плюс-эффект. Наименьшее количество признаков находится под контролем хромосом 1A и 3B.

Таблица 1.1. Эффект моносомии на проявление некоторых признаков у моносомных линий Опал*

Признак	Достоверный плюс-эффект	Достоверный минус-эффект
Высота растения	6D	2A, 6A, 4B, 7B, 1D, 2D, 3D, 4D, 7D
Продуктивная кустистость	–	5A, 1B, 7B, 1D
Число междоузлий	–	3D
Длина верхнего (1-го) междоузлия	–	2A, 3A, 6A, 2D, 3D, 4D
Флаг-лист:		
длина	1A, 5A, 2B, 5B, 6B, 5D	–
ширина	1A, 3B, 5B	6A, 2B, 6D
Устье:		
частота	7A, 4D	6B
длина	–	1A, 3A, 4A, 5A, 1B, 5B, 6D, 7D
ширина	–	4A, 7A, 4D, 6D
Главный колос:		
длина	–	7A, 1B, 4B, 6B, 1D, 2D, 4D
число колосков	–	4B, 6D
плотность	2D	–
число зерен	–	2A, 4A, 5A, 6A, 7A, 1B, 2B, 4B, 5B, 7B, 1D, 2D, 3D, 4D, 5D, 6D, 7D
число зерен на колосок	–	2A, 4A, 5A, 6A, 7A, 1B, 4B, 7B, 1D, 2D, 3D, 4D, 5D, 6D
масса зерна	–	2A, 3A, 4A, 5A, 6A, 7A, 1B, 2B, 4B, 5B, 7B, 1D, 2D, 3D, 4D, 5D, 6D, 7D
Масса 1000 зерен	4A	2D
Время колошения	2A, 3A, 6A, 2B, 5B, 6B, 1D, 2D, 3D, 4D, 5D, 7D	–

* $P < 0,05-0,001$.

Моносомия по хромосомам 2A, 6A, 4B, 7B, 1D, 2D, 7D приводит к достоверному уменьшению высоты растения. Генетический материал двенадцати хромосом (2A, 3A, 6A, 2B, 5B, 6B и все хромосомы генома D, кроме 6D) оказывает сильное влияние на сроки выколашивания. Линии 5B, 6D, 7D можно рекомендовать в качестве доноров короткого вегетационного периода. Выявлен сильный эффект моносомии по хромосоме 3D на число междоузлий и хромосом 1A, 5A, 2B, 5B, 6B, 5D на длину флагового листа. Определено сильное влияние моносомии по хромосомам 4B, 6D на число колосков в колосе. Линию 4B рекомендуется использовать в качестве донора для увеличения длины колоса и числа колосков в нем.

Изучение влияния цитоплазмы на формирование количественных признаков у линий моносомной серии позволило установить наличие и направленность цитоплазматического эффекта, а также показало, что цитоплазма клетки оказывает модифицирующее влияние на экспрессию генов ядра, которым принадлежит основная роль в контроле изучаемых признаков. Внутривидовое замещение цитоплазмы может изменить направление влияния моносомии, однако эффект хромосом ядра и цитоплазматического фона клетки нестабилен в онтогенезе [35, 36]. В одних

случаях их влияние на конкретный признак проявляется на протяжении всего вегетационного периода, в других – ограничивается определенными фазами развития.

В процессе создания серии моносомных линий у сорта Опал с использованием анеуплоидов Chinese Spring были выявлены различия между дисомиками разных линий по многим количественным признакам [33]. Некоторые 42-хромосомные растения в потомстве моносомиков 6–7 беккроссов выделялись по ряду хозяйственно ценных признаков. После отбора и размножения этих растений были получены две формы яровой пшеницы – безостая и остистая. Изучение выделенных форм в сравнении с исходным сортом показало, что выколашивание у них наступает на 5–7 дней раньше. Обе формы характеризуются почти выполненной соломиной, что обеспечивает устойчивость к полеганию, а также превосходят исходный сорт по ряду признаков продуктивности. Полагая, что такая изменчивость линий может быть вызвана влиянием цитоплазмы Chinese Spring, нами были получены дисомики на цитоплазме Опал [37, 38]. Однако различия между 42-хромосомными растениями сохранились, несмотря на смену цитоплазмы. Данный факт позволил предположить, что выявленная гетерогенность дисомных растений обусловлена прохождением растений через анеуплоидное состояние. Вероятно, несбалансированность генетического аппарата моносомиков в мейозе стимулирует рекомбиногенез. При этом эуплоидное потомство от самоопыления моносомиков наследует рекомбинантный генетический материал, что обеспечивает его повышенную изменчивость по сравнению с исходным сортом. Создание полной серии дисомных линий в ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» позволило детально изучить характер выявляемой изменчивости [33].

Для проверки выдвинутого предположения выполнено исследование гетерогенности дисомных линий Опал на цитоплазме Опал на основе биохимического, молекулярно-генетического и биометрического анализов, а также проведено испытание экспериментального материала в системе топкросса, с последующей оценкой комбинационной способности дисомных линий и эффекта гетерозиса их гибридов F_1 .

При проведении RAPD PCR с ДНК дисомных линий Опал, полиморфные локусы обнаружены у линий 1А (OPW01), 4А, 6А (P46), 7А (OPW02), 1В (OPW02), 2В (OPX01, OPW01), 3В (OPW01, OPW02), 6В (OPT08, P36), 1D (P36), 3D (P46). Причем два дисомика – 1А (OPW-01) и 2В (OPX-01) – обладали уникальными фрагментами. Полиморфный локус линии 2В (OPX-01) также присутствовал у сорта Chinese Spring. Дисомики 6В, 1D и сорт Chinese Spring при амплификации с праймером P-36 в отличие от остальных линий и сорта Опал характеризовались наличием ноль-фрагмента (830 пн) [34].

В результате сравнительного изучения изоформ 12 ферментных систем и компонентного состава основных белков (экстрагированных из листьев 10-дневных проростков) полной серии дисомных линий полиморфные локусы обнаружены: у пяти линий А-генома (1А, 2А, 3А, 5А, 7А), в том числе уникальные (3А-GDH, 2А-пероксидазы), четырех линий В-генома (3В, 4В, 5В, 7В) и двух D-линий (3D, 7D) [35, 36]. Причем все дисомики 3-й и 7-й гомеологичных групп оказались полиморфными. Наибольшее число полиморфных локусов определено для линии 3А.

В ходе дисперсионного анализа количественных признаков с помощью F-теста установлены существенные различия между дисомными линиями по группам гомеологии и геномам (табл. 1.2). Обнаружены также общие тенденции в характере варьирования ряда признаков для дисомиков в пределах А-, В- и D-групп. У D-линий границы вариационного ряда значительно шире, чем у А- и В-дисомиков. В зависимости от анализируемого признака диапазон изменчивости D-линий превосходит А-линии на 2,7–9,5%, В-линии – на 1,3–9,6%. В большинстве случаев А-дисомики характеризуются наименьшей изменчивостью, тогда как В-дисомики имеют средние показатели коэффициента варьирования и, как правило, не превосходят D-линии.

Таблица 1.2. Дисперсионный анализ изменчивости количественных признаков у дисомных линий мягкой яровой пшеницы Опал по гомеологическим группам и геномам

Источник варьирования	Степень свободы	Средние квадраты								
		Масса зерна растения	Число зерен растения	Масса 1000 зерен растения	Масса зерна колоса	Число зерен колоса	Масса 1000 зерен колоса	Плотность колоса	Продуктивная кустистость	Высота растения
Гомеологические группы	6	0,40	1057,6**	27,09**	0,24**	132,2**	25,66*	8,38**	1,62**	84,1**
Геномы	2	0,18	172,2	66,07**	0,04	6,18	18,32	10,85**	2,64**	169,4**
Взаимодействие	12	0,86*	1353,7**	45,36**	0,19**	75,6**	50,08**	6,72**	1,19**	94,4**

* $P < 0,05$.

** $P < 0,01$.

Испытание серии дисомных линий Опал на комбинационную способность показало, что линии существенно отличаются между собой по общей и специфической комбинационной способности [37]. Значительные различия по эффектам ОКС проявляются не только между отдельными линиями, но и в зависимости от их принадлежности к тому или иному геному. D-линии характеризуются наиболее высокими эффектами ОКС по признакам продуктивности колоса и растения по сравнению с исходным сортом Опал и линиями геномов А и В. В-линии по показателям продуктивности в большинстве случаев имеют ОКС среднего уровня. Эффекты ОКС А-линий по исследуемым признакам в основном достоверно отрицательные.

Оценка гибридного потомства позволила выявить комбинации с высокой степенью гетерозиса по элементам продуктивности. В шести комбинациях скрещивания с участием D- и В-линий (1D, 3D, 4D, 6D, 4B, 7B) гибриды превосходили лучшего родителя по массе зерна с растения (МЗР) более чем на 30%. В трех гибридных комбинациях, с участием D- и В-линий (2D, 3D, 5B) величина гетерозиса по МЗР превышала 20%. В четырех комбинациях скрещивания с участием D-, В- и А-линий (2D, 7D, 6B, 5A) гибриды превосходили лучшего родителя по этому же признаку (МЗР) более чем на 10%. Таким образом, гетерозисное потомство было получено в топкроссе с участием шести D-линий, четырех В-линий и одной А-линии. Превосходный результат во всех комбинациях скрещивания давали линии 2D и 3D.

Полученные на основе проведенных анализов данные показали, что наибольшей изменчивостью обладают дисомные линии А-генома: у всех А-линий выявлены полиморфные локусы. Наименьший уровень полиморфизма наблюдался у линий D-генома (за исключением линии 3D), где полиморфные локусы обнаружены у дисомиков 3D и 7D. Полиморфизм также обнаруживали линии В-генома. При этом высокие гетерозисные эффекты отмечены в гибридных комбинациях с участием линий В- и D-геномов, для которых характерны средний и низкий уровни молекулярно-генетического полиморфизма; А-линии, как наиболее полиморфные не показали высоких гетерозисных эффектов, а в большинстве комбинаций оказались худшими. Следует отметить дисомики 3А и 3D, которые обладали наибольшим числом выявленных полиморфных локусов. Интересен тот факт, что именно на хромосомах 3А и 3D локализованы второстепенные супрессоры гомеологичной конъюгации. Линии 4В, 7В, 2D, 3D, 6D, обладающие высоким генетическим потенциалом и позволяющие получать высокогетерозисное потомство, переданы для использования в селекционном процессе.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что в генетическом аппарате дисомиков произошли изменения, которые, по нашему мнению, обусловлены прохождением растений через анеуплоидное состояние. Часть изменений может быть обеспечена гомеологичной конъюгацией в мейозе, вероятность которой в норме невелика. Возможно, анеуплоидный фактор влияет на силу супрессорного эффекта хромосомы 5В, на коротком плече которой располагается ген *Ph* и силу вспомогательных супрессоров (хромосом 3А, 3D), оказывающих подавляющее действие на гомеологичную конъюгацию.

Вероятно, большинство рекомбинаций возникли на самых ранних этапах создания серии, что позволило им закрепиться в процессе размножения линий. Анеуплоидный фактор, дестабилизируя геном, способствовал перекомбинации генетического материала, сыгравшей решающую роль в формировании изменчивости дисомных растений.

1.2.2. Генетический контроль морфофизиологических процессов

В настоящее время селекционный материал при любой программе создания сортов с высоким биологическим потенциалом урожая оценивается лишь по конечному результату – величине сформированного урожая и анализу его структурных компонентов. Динамика же сложных физиолого-биохимических и морфогенетических процессов формирования урожая, особенности взаимосвязи этих процессов остаются недостаточно выясненными. Сейчас уже ни у кого не вызывает сомнения тот факт, что основные этапы индивидуального развития организма – общий ход онтогенеза, последовательность возрастных и морфофизиологических этапов, характер приспособительных реакций развития – генетически детерминированы.

Согласно общим представлениям, выдвинутом Д. Боннером еще в 1967 г. [39], генетический материал клетки организован в сложные, взаимодействующие морфогенетические программы. Особенно интенсивно работы по морфобио-

зиологии растений выполнялись в течение многих лет в лаборатории биологии развития растений МГУ [40, 41], в результате которых было установлено, что в процессе онтогенеза пшеница последовательно проходит 12 этапов органогенеза, при этом каждый из них сопровождается изменениями морфологических структур и соответствующих количественных показателей.

Выбор направлений проведенных нами исследований был основан на необходимости получения информации о генетической детерминации хода морфофизиологических процессов у яровой пшеницы. В качестве объекта исследований использовали анеуплоидную серию дителоцентрических (ДТ) по стандартному плечу хромосомы линий яровой пшеницы сорта Chinese Spring, любезно предоставленную американским ученым Е. Сирсом. С целью выявления хромосом, контролирующих эти процессы у мягкой пшеницы, сравнивали состояние конусов нарастания у эуплоидных растений и ДТ-линий, и выполняли морфологический анализ последних по мере наступления каждого этапа органогенеза с определением его продолжительности [42]. Трехлетние вегетационные опыты показали, что состояние конусов нарастания в одни и те же календарные даты у ДТ-линий из первой гомеологической группы во всех опытах не имеет существенных различий в скорости развития растений по сравнению с контролем. Линии из третьей гомеологической группы ведут себя иным образом. Так, ДТ 3ВL существенно не отличаются от эуплоидных растений, в то время как ДТ 3А α и ДТ 3D α по дифференциации и ростовым показателям конуса нарастания имеют значительные отклонения от контроля и остальных ДТ-линий. В условиях теплицы уже на первых этапах развития (через 25 сут. после появления всходов) ДТ 3D α выделилась более быстрым формированием конуса нарастания и более интенсивным прохождением II этапа органогенеза, в результате чего сократился период закладки вегетативных органов растения. Разрыв во времени прохождения этапов органогенеза между ДТ 3D α и другими линиями сохранился и в более поздний период.

Наблюдения за темпами развития ДТ-линий показали, что органогенез у сорта Chinese Spring контролируется многими хромосомами. В зависимости от условий выращивания растений изменяется не только число хромосом, участвующих в контроле органогенеза, но и направленность действия некоторых из них (ускорение или замедление темпа развития у линий по отношению к контролю). Так, отсутствие плеча в хромосоме 7A во всех опытах способствовало замедлению темпов развития растений. Были определены хромосомы, направленность влияния которых проявляется независимо от условий выращивания растений. Может изменяться только степень проявления реакции растений на отсутствие плеча в этих хромосомах. К ним относятся 3A и 3D хромосомы, всегда ускоряющие темпы развития растений, и 5A, 5D, 6D хромосомы, замедляющие их.

Яровая пшеница по отношению к фотопериоду является типичным длиннодневным растением. Вместе с тем имеются сведения о различной фотопериодической чувствительности ее сортов [10]. На основе набора ДТ-линий сорта Chinese Spring была оценена чувствительность растений яровой пшеницы к изменению

фотопериода в условиях Беларуси. В вегетационном опыте в течение двух лет исследовалась реакция на длину дня. Результаты исследований показали, что сорт Chinese Spring и ДТ-линии быстрее выколашиваются при продолжительном дне. Линии ДТ 2AS, ДТ 3AS, ДТ 3A α , ДТ 2D α , ДТ 5BL, ДТ 7BL – выколашиваются практически одновременно с контролем. Остальные отстают в развитии от эуплоидных растений на 4–9 дней. При продолжительном дне отклонения от контроля во времени выколашивания по годам у линий сравнительно стабильны.

При коротком 12-часовом дне у сорта Chinese Spring и всех ДТ-линий значительно задерживаются сроки колошения, что свидетельствует о чувствительности эуплоидных и анеуплоидных растений к изменению продолжительности дня. Поэтому чувствительность дителосомных линий к фотопериоду можно рассматривать только относительно чувствительности самого сорта Chinese Spring.

Известно, что степень фотопериодической реакции связана с генетически обусловленной скороспелостью растений: скороспелые сорта реагируют на длину дня в меньшей степени, чем позднеспелые. В нашем опыте линии с меньшей чувствительностью к фотопериоду при длинном дне также выколашивались значительно быстрее по сравнению с остальными дителосомниками.

Изучение генетического контроля некоторых других количественных признаков позволило установить, что отсутствие плеча в любой из хромосом, как правило, снижает высоту главного стебля растений, причем степень снижения этого показателя зависит от взаимодействия генетического фактора с условиями произрастания растений. Изменение длины пластинки флагового листа также связано почти со всеми хромосомами. Однако отсутствие плеча только в пяти хромосомах вызывает изменение длины пластинки флагового листа независимо от условий выращивания растений. На этом основании можно считать, что показатель роста – длина листовой пластинки – связан с коротким плечом в хромосомах 1A, 4B, 7A, 7B и β -плечом в хромосоме 4A; ширина пластинки флагового листа находится под контролем только трех хромосом (1B, 7A, 7B).

При изучении роли отдельных хромосом в генетическом контроле формирования элементов продуктивности растений ДТ-линий яровой пшеницы было установлено влияние практически всех хромосом [42].

1.2.3. Генетический контроль интенсивности процесса дыхания в онтогенезе

Использование дителоцентрических линий сорта Chinese Spring, отличающихся между собой темпами роста и развития, позволило оценить степень влияния отдельных хромосом на интенсивность процесса дыхания в онтогенезе. Отбирали линии с быстрыми (ДТ 3D α) и замедленными (ДТ 5AL, ДТ 5DL, ДТ 7AL) темпами роста и развития. Контролем служила эуплоидная форма Chinese Spring ($2n = 42$).

Изменение интенсивности дыхания листьев в онтогенезе у всех изучаемых линий было сходным, причем каждому этапу свойствен определенный уровень активности дыхательных процессов. Резкое ускорение процесса дыхания совпа-

ло с началом быстрого роста стебля в высоту (IV, VII этапы онтогенеза). Максимальные показатели интенсивности дыхания наблюдались на IX этапе органогенеза в период цветения.

В результате исследования установлена роль генетического фактора в контроле интенсивности дыхания. На всех этапах органогенеза у линии ДТ 3Dα интенсивность дыхания листьев значительно выше контроля. У линий ДТ 5AL, ДТ 5DL и ДТ 7AL, наоборот, наблюдалось снижение интенсивности дыхания, особенно на поздних этапах органогенеза. Самыми низкими показателями характеризовалась линия ДТ 5DL, тогда как ДТ 5AL и ДТ 7AL заняли промежуточное положение между контролем и ДТ 5DL.

В предыдущих экспериментах по изучению генетического контроля роста и развития [43, 44] было установлено, что линия ДТ 3Dα отличается быстрым, а линии ДТ 5AL, ДТ 5DL, ДТ 7AL – медленным темпом формирования вегетативных и генеративных органов. Сопоставление данных показало, что существует тесная взаимосвязь между скоростью ростовых и формообразовательных процессов и интенсивностью дыхания у растений. С ускорением темпов роста и развития интенсивность дыхания возрастает, с замедлением – падает. Следовательно, отсутствие одного и того же плеча хромосомы вызывает изменение скорости процессов роста и развития, а также интенсивности дыхания. Отсутствие плеча в хромосоме 3D ускоряет, а в хромосомах 5A, 5D и 7A замедляет эти процессы.

Из группы дыхательных ферментов многие исследователи выделяют пероксидазу как интересный объект для физиологических исследований. Пероксидазу считают ферментом с четко выраженными оксидазными свойствами и способностью очень тонко реагировать на любые воздействия, оказываемые на растительный организм [45]. Мы попытались выяснить влияние генетического фактора на активность пероксидазы, используя дителосомные линии пшеницы Chinese Spring [42]. Учитывая возможную связь между активностью пероксидазы и темпами роста и развития растений, использовали те же линии, что и для изучения интенсивности процессов дыхания: ДТ 3Dα с быстрым и ДТ 5AL, ДТ 5DL, ДТ 7AL с замедленным темпами роста и развития. В полевом опыте у всех линий наблюдалась общая закономерность изменения активности пероксидазы в процессе онтогенеза – она увеличивалась с возрастом растений. Дителосомные линии, выделившиеся по темпам формирования органов растений, различались также и по активности пероксидазы. Недостаток плеча в хромосоме 3D приводил одновременно к ускорению темпов роста и развития и повышению уровня активности пероксидазы на определенных этапах органогенеза. Дителоцентрическое состояние хромосомы 5A и 5D вызывало замедление темпов формирования вегетативных и генеративных органов, а также снижение активности пероксидазы в отдельные периоды онтогенеза.

Проведенные исследования показали, что уровень активности пероксидазы в процессе онтогенеза у всех линий и эуплоидных растений повышается с возрастом растений, при этом степень влияния отсутствующего плеча хромосомы на активность фермента на разных этапах органогенеза различна.

1.2.4. Генетический контроль каллусогенеза

Способность тканей и клеток при определенных условиях давать начало интактному растению позволяет осуществлять переход с клеточного уровня на организменный и обратно, наблюдать и изучать процессы дифференциации. Поэтому не случайно одной из первых областей использования метода культуры тканей была физиология морфогенеза растений [46]. Особенно перспективным представляется использование изолированных тканей у культуры пшеницы. Наличие наборов моносомных, нуллисомных и ДТ-линий, аллоплазматических гибридов, возможность использования диких видов, имеющих геномы, входящие в состав сложного генома мягкой пшеницы, делает ее исключительно ценным объектом генетического анализа.

На коллекции дителоцентрических линий пшеницы сорта Chinese Spring мы провели исследование роли хромосом в генетическом контроле каллусогенеза [47]. Была получена каллусная культура сорта Chinese Spring и 19 ДТ-линий этого сорта (ДТ 1AL, ДТ 2AS, ДТ 3A α , ДТ 4A α , ДТ 5AL, ДТ 6A α , ДТ 7AL, ДТ 1BL, ДТ 2BL, ДТ 3BL, ДТ 4BL, ДТ 5BL, ДТ 6BS, ДТ 7BL, ДТ 1DL, ДТ 3D α , ДТ 5DL, ДТ 6DL, ДТ 7DS).

Каллусную культуру получали из зародышей семян. Использовали среду В-5 с 2 мг/л 2,4-Д. Инициация каллуса наблюдалась в 100% случаев у всех линий. Показателем способности к недифференцированному росту служила сырая масса первичного каллуса, которую определяли через 40 сут. после помещения эксплантов на среду (табл. 1.3).

Таблица 1.3. Масса первичных каллусов ДТ-линий мягкой пшеницы сорта Chinese Spring (среда В-5 с 2 мг/л 2,4-Д), мг

Гомеологическая группа	А-геном	В-геном	Д-геном*
1	45,84 \pm 4,75**	36,66 \pm 4,06**	62,52 \pm 11,47
2	43,78 \pm 6,56**	35,36 \pm 4,33**	–
3	44,58 \pm 3,63**	60,10 \pm 14,88	66,41 \pm 12,23
4	63,36 \pm 4,55	58,80 \pm 11,29	–
5	59,86 \pm 5,28	46,28 \pm 2,62**	67,08 \pm 8,87
6	58,68 \pm 8,20	64,48 \pm 5,70	78,46 \pm 10,89
7	37,90 \pm 7,32**	65,70 \pm 8,29	63,43 \pm 4,62

* Контроль (эуплоид 2n = 42 сорта Chinese Spring).

** P < 0,01.

Сравнение интенсивности каллусообразования у 19 ДТ-линий и эуплоида пшеницы сорта Chinese Spring показало, что отсутствие одного из плеч у хромосом 1A, 2A, 3A, 7A, 1B, 2B, 5B достоверно приводит к снижению интенсивности каллусообразования у соответствующих линий.

Изучение характера генных эффектов при наследовании признака «интенсивность каллусообразования» позволило определить относительную важность ге-

нов с аддитивными и неаддитивными (доминантными и эпистатическими) эффектами на основании сравнения варiances общей (σ_{g_i}) и специфической ($\sigma_{s_j}^2$) комбинационной способности у сортов и линий пшеницы по этому признаку. Оценку эффектов и варiances ОКС и СКС проводили в системе диаллельных скрещиваний по методу 4 Гриффинга [48, 49]. Изучали комбинационную способность сортов пшеницы Chinese Spring, Опал, Питик 62, Ленинградка, Минская 1 и ДТ-линий сорта Chinese Spring 5-й гомеологической группы: ДТ 5AL, ДТ 5BL, ДТ 5DL.

Изменчивость ОКС признака была высоко достоверна ($P < 0,01$), изменчивость СКС в целом по группе линий незначительна. Это послужило основанием для заключения, что у изучаемых сортов в контроле признака «интенсивность каллусообразования» преобладающую роль играют аддитивные эффекты генов.

1.2.5. Генетический контроль устойчивости к бурой ржавчине

Для выяснения участия отдельных плеч хромосом генома мягкой пшеницы в контроле полигенной устойчивости к возбудителю бурой ржавчины использовали коллекцию из 19 дителоцентрических линий сорта Chinese Spring [50]. В качестве инокулюма использовали пять клонов *Puccinia triticina* Erikss., которые были выделены из белорусской популяции гриба и различались по вирулентности на шести изогенных линиях сорта Thatcher, имеющих гены устойчивости *Lr1*, *Lr2a*, *Lr15*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr26*. Кроме того, патотипы бурой ржавчины различались по агрессивности к сорту Chinese Spring. Оценивали основные показатели полигенной устойчивости: число пустул (ЧП) на 1 см² площади листа, среднюю спороносящую способность пустулы (СССП) и среднюю спороносящую способность гриба с единицы (1 см²) листовой поверхности (СССЕЛП). Статистическую обработку данных осуществляли по программе дисперсионного анализа (пакет программ АВ-STAT) и кластерного анализа (пакет STATISTICA).

Результаты исследований показали сильную корреляцию между признаками СССП и СССЕЛП ($r > 0,75$). Это указывает на то, что гены, контролирующие эти признаки, локализованы в одних и тех же плечах исследованных ДТ-линий и проявляются при заражении растений всеми использованными клонами гриба. Среднюю корреляцию ($r = 0,5-0,7$) наблюдали между ЧП и СССЕЛП, что указывает на участие в генетическом контроле этих признаков как общих малых генов, так и различных, локализованных в других хромосомах. Следовательно, комплексный показатель устойчивости СССЕЛП в большей степени генетически связан с показателем СССП, чем с ЧП. Для признаков ЧП и СССП не было выявлено достоверной корреляции при инокуляции четырьмя из пяти клонов гриба. Таким образом, в большинстве случаев ЧП и СССП имели разный генетический контроль.

Было обнаружено, что большинство ДТ-линий, а также сорт Chinese Spring, дифференциально взаимодействовали с патогеном. Аспект специфичности взаимодействия дителоцентрических линий мягкой пшеницы с клонами возбудителя бурой ржавчины и взаимосвязи исследуемых факторов приведен в работе [50].

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие редакторов	5
<i>Глава 1. Пшеница (Н. А. Картель, Л. В. Хотылева, М. Н. Шантуренко, А. А. Булойчик, Е. А. Волуевич, В. С. Борзяк, С. И. Гриб, И. К. Коптик)</i>	<i>8</i>
1.1. Экспериментальный мутагенез	9
1.1.1. Получение и характеристика мутантных форм	10
1.1.2. Синтетические популяции мутантов	12
1.1.3. Индуцированная генетическая нестабильность	14
1.2. Генетический анализ пшеницы с использованием анеуплоидов	16
1.2.1. Создание серии моносомных линий у мягкой пшеницы сорта Опал и ее генетический анализ	16
1.2.2. Генетический контроль морфофизиологических процессов	21
1.2.3. Генетический контроль интенсивности процесса дыхания в онтогенезе	23
1.2.4. Генетический контроль каллусогенеза	25
1.2.5. Генетический контроль устойчивости к бурой ржавчине	26
1.3. Пыльцевой эмбриогенез и регенерация растений	28
1.4. Генетические подходы в селекции мягкой пшеницы на устойчивость к грибным патогенам	33
1.5. ДНК-маркерный анализ белорусских сортов озимой пшеницы	41
1.6. Генофонд и его использование в селекции	45
1.7. Совершенствование методов селекции	46
Литература	48
<i>Глава 2. Тритикале (И. А. Гордей, О. М. Люсиков, Н. Б. Белько, Л. В. Хотылева, Л. Н. Каминская, Л. В. Корень, О. М. Орловская, С. И. Гриб, В. Н. Бушневич)</i>	<i>52</i>
2.1. Краткая история создания, видовой состав и распространение тритикале	52
2.2. Генетические особенности тритикале	56
2.3. Методы создания тритикале	59
2.4. Генетический контроль скорости развития растений тритикале	62
2.4.1. Синтез первичных тритикале	63
2.4.2. Стабилизация пшенично-ржаных амфидиплоидов с включением <i>Vrn</i> -генов	67
2.4.3. Экспрессия <i>Vrn</i> -генов в генетической среде тритикале	69
2.4.4. Молекулярно-генетическое изучение линий тритикале с <i>Vrn</i> -генами	73
2.5. Обогащение генома гексаплоидного тритикале путем интрогрессии чужеродного генетического материала	77
2.5.1. Гибридизация тритикале и геномно-замещенных форм пшеницы с целью интрогрессии генетического материала эгилопса в геном тритикале	79
2.5.2. Анализ поведения хромосом на разных стадиях мейоза у гибридов тритикале F ₁ и F ₄	80
2.5.3. Идентификация чужеродного материала <i>Aegilops</i> в гибридном материале	85
2.5.4. Оценка элементов продуктивности и содержания белка в зерне растений тритикале с интрогрессией генетического материала эгилопса	90

2.6. Создание тритикале с цитоплазмой ржи – секалотритикум	92
2.7. Система рода тритикале (<i>× Triticosecale Wittmack</i>)	107
2.8. Результаты селекции тритикале в Беларуси	110
Источники и литература	114
Глава 3. Озимая рожь (<i>Э. П. Урбан, С. И. Гордей, И. А. Гордей</i>)	120
3.1. Краткая история, этапы развития и достижения селекции культуры ржи (<i>Secale cereale L.</i>)	120
3.1.1. Краткая история культуры ржи	120
3.1.2. Роль ржи в мировом земледелии и в Беларуси	121
3.1.3. История научной селекции ржи	122
3.1.4. Этапы развития, достижения и направления селекции ржи в Беларуси	123
3.2. Генетические источники селекционно-ценных признаков озимой ржи	127
3.2.1. Генофонд озимой ржи – основа для создания новых сортов	127
3.2.2. Источники продуктивности и устойчивости к полеганию	129
3.2.3. Источники зимостойкости и выносливости к снежной плесени	131
3.2.4. Источники устойчивости к основным видам грибных заболеваний	132
3.2.5. Источники качества зерна	133
3.3. Селекция озимой диплоидной ржи	135
3.3.1. Генетические основы и методы создания короткостебельных сортов-популяций	135
3.3.2. Практические результаты селекции диплоидной ржи	138
3.4. Эффективность метода экспериментальной полиплоидии в селекции озимой ржи	138
3.4.1. Исходный материал для селекции озимой тетраплоидной ржи	138
3.4.2. Экспериментальная полиплоидия как метод создания нового исходного материала	140
3.4.3. Методы экспериментального получения полиплоидов и их использование в селекции озимой ржи	144
3.4.4. Практические результаты селекции тетраплоидной ржи	148
3.5. Использование ЦМС в селекции озимой ржи в Беларуси	148
Литература	153
Глава 4. Картофель (<i>А. П. Ермишин, Е. В. Воронкова, В. А. Козлов</i>)	156
4.1. Генетические особенности картофеля как объекта селекции	157
4.1.1. Эволюция культурного картофеля	157
4.1.2. Автотетраплоидная природа картофеля	159
4.2. Манипуляции с плоидностью в селекции картофеля	161
4.2.1. Дигаметоиды картофеля	161
4.2.2. Восстановление тетраплоидного уровня. Митотическое удвоение хромосом	164
4.2.3. Восстановление тетраплоидного уровня. Мейотическое удвоение хромосом	164
4.2.4. Инбридинг, гетерозис у диплоидного и тетраплоидного картофеля при переходах с одного уровня плоидности на другой. Теория гетероаллелизма	166
4.2.5. Эффект уровня плоидности	170
4.3. Задачи, направления и методы селекции картофеля	171
4.3.1. Методы селекции картофеля. Организация селекционного процесса в Беларуси	172
4.3.2. Характер наследования основных хозяйственно ценных признаков. Использование ДНК-маркеров для идентификации генов	175
4.3.2.1. Гены устойчивости к фитофторозу картофеля	176
4.3.2.2. Гены устойчивости к цистообразующей нематоды	179
4.3.2.3. Гены устойчивости к Y-вирусу картофеля (PVY)	180
4.3.2.4. Гены устойчивости к X-вирусу картофеля (PVX)	180
4.3.2.5. Гены устойчивости к L-вирусу картофеля (BSLK, PLRV)	181
4.3.2.6. Гены устойчивости к раку картофеля	182

4.3.3. Мультиплексные линии	183
4.3.4. Использование диких и примитивных культурных видов в селекции картофеля	184
4.3.4.1. Систематика и эволюция картофеля	184
4.3.4.2. Интрогрессия ценного генофонда диких и примитивных культурных видов картофеля в селекционный материал	188
4.3.4.3. Направления использования генофонда диких видов в селекции картофеля	189
4.3.4.4. Изучение диких видов картофеля с целью поиска источников, ценных для селекции генов	190
4.3.4.5. Презиготные репродуктивные барьеры при межвидовой гибридизации картофеля	195
4.3.4.6. Постзиготные репродуктивные барьеры при межвидовой гибридизации картофеля и интерплоидных скрещиваниях	198
4.3.4.7. Роль пре- и постзиготных репродуктивных барьеров при гибридизации культурного картофеля с дикими видами	201
4.3.4.8. Методы преодоления межвидовых репродуктивных барьеров	203
4.3.4.9. Использование соматической гибридизации для преодоления межвидовых репродуктивных барьеров	205
4.3.4.10. Использование видов-посредников и манипуляции с пloidностью для преодоления межвидовых репродуктивных барьеров	208
4.3.4.11. Диплоидные межвидовые гибриды между аллотетраплоидными дикими видами картофеля и дигаплоидами <i>S. tuberosum</i>	210
4.3.5. Селекция картофеля с использованием отбора на диплоидном уровне	211
4.3.5.1. Проблемы диплоидной селекции картофеля и подходы к их решению	213
4.3.6. Подбор родительских форм на основе оценки комбинационной способности селекционного материала	216
Литература	222
Глава 5. Лен (В. В. Титок, В. А. Лемеш, С. И. Юренкова, Л. В. Хотылева)	235
5.1. Классификация льна	236
5.2. Кариотип рода <i>Linum</i>	238
5.3. Эволюционные связи между видами и подвидами рода <i>Linum</i>	239
5.4. Строение стебля льна	245
5.4.1. Анатомические показатели стебля сортов льна-долгунца	246
5.4.2. Наследование анатомических показателей у F ₁ -гибридов льна-долгунца	249
5.4.3. Анализ микроструктуры волокон льна методом сканирующей электронной микроскопии	251
5.5. Генетика количественных признаков сортов льна-долгунца	256
5.5.1. Генотипическая гетерогенность по продуктивности у сортов льна-долгунца	256
5.5.2. Генетический контроль признаков продуктивности у сортов льна-долгунца	258
5.6. Фотосинтез и продукционный процесс	264
5.6.1. Содержание хлорофилла у сортов льна в онтогенезе	264
5.6.2. Фотосинтетическая продуктивность сортов и F ₁ -гибридов льна-долгунца в онтогенезе	267
5.6.3. Анализ роста растений и фотохимическая активность хлоропластов контрастных по урожайности сортов льна-долгунца в онтогенезе	271
5.6.4. Изменчивость ультраструктурных признаков хлоропластов клеток листа у <i>L. angustifolium</i> и <i>L. usitatissimum</i>	276
5.6.5. Ультраструктура хлоропластов и митохондрий клеток листа у сортов и F ₁ -гибридов льна-долгунца	278
5.7. Биотехнология льна	280
5.7.1. Регенерационная способность сортов льна в культуре <i>in vitro</i>	282

5.7.2. Создание генетически модифицированных растений льна (<i>L. usitatissimum</i> L.) методами агробактериальной и биобаллистической трансформации	283
5.8. Селекционные достижения по культуре льна в Беларуси	286
Источники и литература	288
Глава 6. Сахарная свекла (А. М. Свищевская)	295
6.1. Краткая историческая справка по культуре. Особенности свеклы, послужившие причиной для ее окультуривания. Современная таксономия	295
6.2. Характеристика свекольного растения и наследование. Генетика селекционно-значимых признаков	297
6.3. Использование генетических методов в селекции (полиплоидия, гетерозис, отдаленная гибридизация)	305
6.4. Использование методов культивирования <i>in vitro</i> в селекции (клональное размножение, регенерация растений <i>de novo</i> , гаплоидия, культура протопластов, соматклены и клеточная селекция)	310
6.5. Использование молекулярных маркеров в селекции. Трансгенез	315
6.6. Совершенствование методов селекции на основе генетических подходов	318
6.7. Создание уникального исходного материала, поддержание генколлекций	321
6.8. Достижения по культуре сахарной свеклы в Беларуси	323
Источники и литература	325
Глава 7. Соя (О. Г. Давыденко, Д. В. Голоенко, В. Е. Розенцвейг, Е. А. Аксенова)	335
7.1. Генетические основы селекции хозяйственно ценных признаков сои	337
7.1.1. Генетическая система фотопериодической реакции	337
7.1.2. Соотношение продолжительности фенофаз	343
7.1.3. Архитектоника растения	344
7.1.4. Оптическая структура агроценоза	347
7.1.5. Генетические основы адаптивной селекции сои	348
7.2. Создание генетического разнообразия	352
7.3. Биотехнологические методы селекции сои	357
7.3.1. Маркер-сопутствующая селекция	357
7.3.2. Генно-инженерные технологии	358
7.4. Исходный материал для селекции. Генетическая коллекция	361
7.5. Результаты селекционной работы по сое в Беларуси	362
Источники и литература	363
Глава 8. Люпин узколистный (Н. С. Купцов, Т. П. Миронова)	369
8.1. Таксономические признаки	370
8.1.1. Окраска цветка	370
8.1.2. Окраска семян	372
8.1.3. Окраска листа	375
8.1.4. Характер ветвления стебля	376
8.1.5. Форма стебля	377
8.2. Признаки генеративной сферы	378
8.2.1. Количество цветков в кисти	379
8.2.2. Количество бобов в кисти	380
8.2.3. Количество семян в бобе	381
8.2.4. Масса 1000 семян	383
8.2.5. Растрескиваемость бобов	386
8.2.6. Проницаемость оболочки семени	387
8.3. Признаки вегетативной сферы	388
8.3.1. Высота растений	388
8.3.2. Структура листа	390

8.3.3. Восковой налет	394
8.3.4. Угол отхождения боковых ветвей от главного стебля	395
8.4. Физиологические признаки	396
8.4.1. Реакция узколистного люпина на яровизирующие температуры	396
8.4.2. Темп роста узколистного люпина	399
8.4.3. Морозоустойчивость растений люпина	401
8.4.4. Реакция узколистного люпина на дефицит в почве марганца	401
8.5. Биохимические признаки	402
8.5.1. Содержание белка в семенах	402
8.5.2. Содержание алкалоидов в семенах	403
8.5.3. Состав алкалоидного комплекса семян	405
8.6. Генетика устойчивости узколистного люпина к болезням	406
8.6.1. Устойчивость узколистного люпина к фузариозной корневой гнили	407
8.6.2. Устойчивость узколистного люпина к фузариозному трахеомикозному увяданию	408
8.6.3. Устойчивость к антракнозу	408
8.6.4. Устойчивость узколистного люпина к фомопсису	409
8.6.5. Устойчивость к бурой пятнистости	410
8.6.6. Устойчивость к серой пятнистости	410
8.6.7. Комплексная устойчивость сортов к грибным болезням	411
8.7. Генетика доместикации и ее использование в селекции	417
Литература	417

Глава 9. Томат (А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева, М. М. Добродькин, В. В. Скорина, Л. Г. Коготько, Т. В. Никонович, О. Г. Бабак, И. Г. Пугачева, Н. Ю. Лещина, Е. Ю. Иванцова, Л. А. Тарутина, А. В. Щур, А. В. Крук, С. В. Мальшев, Л. А. Мишин, Д. П. Бажанов, Н. А. Некрашевич, А. А. Бажанова, В. А. Лемеш, З. Е. Грушецкая) 422

9.1. Основные направления селекции томата	422
9.2. Генетический анализ наследования хозяйственно ценных признаков томата	426
9.2.1. Генетические основы селекции партенокарпических гибридов	426
9.2.1.1. Влияние средовых условий на проявление комбинационной способности образцов томата	428
9.2.1.2. Изменение генетических параметров наследования признаков томата в различных условиях среды	430
9.2.2. Генетические основы селекции лежких гибридов	433
9.3. Методические основы гетерозисной и адаптивной селекции томата	438
9.3.1. Генетические основы селекции гибридов томата в защищенном грунте	440
9.3.1.1. Комбинационная способность линий томата в диаллельных скрещиваниях	440
9.3.1.2. Наследование компонентов урожайности томата в топкроссных гибридах F ₁	443
9.3.2. Использование стерильных форм в гетерозисной селекции томата	447
9.3.2.1. Типы стерильности	447
9.3.2.2. Биология цветения и размножения партенокарпических форм томата с функциональной мужской стерильностью	450
9.3.2.3. Оценка комбинационной способности партенокарпических стерильных и фертильных линий в топкроссах	456
9.3.2.4. Оценка адаптивной способности партенокарпических гибридов на основе ФМС	463
9.3.3. Метод реципрокных тестеров	468
9.3.4. Селекция на гетерозис в открытом грунте	472
9.4. Разработка и использование методов периодического отбора в селекции томата	472
9.4.1. Открытый грунт	472
9.4.2. Защищенный грунт	476
9.5. Использование биотехнологических методов в селекции томата	480
9.5.1. Гаметная селекция томата	480

9.5.2. Генетика морфогенеза <i>in vitro</i>	484
9.5.3. Использование молекулярных маркеров в селекции томата	489
9.6. Генетические основы селекции энергетически эффективных сортов томата.	492
9.7. Генетические основы селекции томата на минимальное накопление поллютантов.	495
9.8. Селекция томата на эффективное взаимодействие с почвенной микрофлорой	496
Литература	499
Глава 10. Плодовые культуры (З. А. Козловская)	509
10.1. Яблоня	510
10.2. Груша.	526
10.3. Слива	529
10.4. Вишня и черешня	534
Литература	536
Глава 11. Лесные культуры (А. И. Ковалевич, В. Е. Падутов, А. И. Сидор, А. П. Конциц, С. И. Ивановская)	539
11.1. Методы, используемые в лесной селекции.	545
11.1.1. Методы классической селекции	545
11.1.2. Использование методов компьютерной биометрии	548
11.1.3. Многокритериальный метод отбора клонов для лесосеменных плантаций.	556
11.1.4. Метод микроклонального размножения	557
11.2. Оценка генетического потенциала объектов постоянной лесосеменной базы	558
11.2.1. Генетическая инвентаризация архивно-маточных плантаций	558
11.2.2. Сравнение уровня генетической изменчивости плюсовых и неплюсовых деревьев	560
11.2.3. Уровень генетической изменчивости лесосеменных плантаций	562
11.2.4. Генетическая инвентаризация лесосеменных плантаций	565
11.3. Моделирование лесосеменных плантаций с заданной популяционно-генетической структурой семенного потомства	569
Литература	573