

ФЕНОМОГЕНОМНЫЕ И ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕЛКОГАБИТУСНЫХ МУТАНТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ T.AESTIVUM L

Романов Б. В.¹, Авдеенко А. П.¹, Азаров А. С.²

¹ФГБОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет», п. Персиановский, Ростовская область, Россия (346493, Ростовская область, Октябрьский район, п. Персиановский), e-mail: triticumrbw@mail.ru

²Инновационно-технологический центр «Лаборатория культуры тканей», Ботанический сад, ГОУ ВПО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, Россия (344041, г. Ростов-на-Дону, Ботанический сад, 7, e-mail: garden@srfedu.ru)

В основе феномогеномных исследований лежит изучение взаимосвязи диплоидных геном-феномов. Из полного гомолога (озимой мягкой пшеницы) при помощи N-нитрозо-N-метилмочевина (НММ) выделены яровые мелкозёрные и мелкогабитусные предполагаемые гаплоидные растения, которые обладали высокой фертильностью. В результате пересева из них получена полноценная яровая мягкая пшеница. Проведенные феномогеномные исследования показали, что предполагаемые гаплоидные растения имеют в два раза меньшую массу зерна с колоса, по сравнению с – яровой и в три – с озимой мягкой пшеницами. То есть, с позиции феномогеномики количественных признаков, они представляются по отношению к яровой мягкой пшенице как гаплоиды, а к озимой – как диплоиды. Подсчёт числа хромосом и феномогеномные исследования, с использованием диплоидной пшеницы T.monococcum подтвердили диплоидный статус предполагаемых гаплоидных растений. Они также как и T.monococcum имеют 14 хромосом и вносят аналогичный вклад или феном в сложный количественный признак гексаплоидного озимого T.aestivum L.

Ключевые слова: мелкогабитусные мутанты, мягкая пшеница, феномогеномные исследования.

PHENOMOGENOMICS AND CYTOLOGICAL RESEARCHES FINE-GABITUS MUTANTE T.AESTIVUM L

Romanov B. V.¹, Avdeenko A. P.¹, Azarov A. S.²

¹The Don state agrarian university, Persianovsky, the Rostov area, Russia (346493, the Rostov area, October area, the item Persianovsky) e-mail: triticumrbw@mail.ru

²Innovative and technological center «Laboratory of culture of fabrics», Botanical garden, Southern Federal university, Rostov-on-Don, Russia (344041, Rostov-on-Don, Botanical descent, 7, e-mail: garden@srfedu.ru)

In a basis phenomogenomics researches lies interrelation studying diploidic a genom-phenom. From a full homolog (winter soft wheat) with the helpmutagenes (N-NMM) are allocated summer fine-grain and fine-gabitus prospective haploid plants which possessed high fertility. As a result of resowing from them high-grade summer soft wheat is received. Spent phenomogenomics researches have shown that prospective haploid plants have twice smaller weight of grain from an ear, in comparison with summer and in three with winter soft wheat. That is, from a position phenomogenomic quantitative signs they are represented, in relation to summer soft wheat as haploids, and to winter as diploids. Calculation of number of chromosomes and phenomogenomics researches, with use of diploidic wheat T.monococcum have confirmed the diploidic status of prospective haploid plants.They also as well as T.monococcum have 14 chromosomes and bring the similar contribution or the phenom a difficult quantitative sign hexaploids winter T.aestivum L.

Key words: fine-gabitus mutant, soft wheat, phenomogenomics researches.

Нами с использованием результатов феномогеномных исследований количественных признаков пшеницы создан полный гомолог мягкой пшеницы, из которого под воздействием N-нитрозо-N-метилмочевина (НММ) выделены мелкозёрные мелкогабитусные растения [6, 7, 8]. Эти мелкогабитусные растения сохраняли свои морфоструктурные особенности в течение нескольких лет возделывания. То есть обладали определенной стабильностью. Своими существенно меньшими размерами они, в принципе, напоминают гаплоидные формы мягкой пшеницы.

Как известно, гаплоиды это особи обычно диплоидных или аллополиплоидных видов, в соматических клетках которых содержится в 2 раза меньше хромосом, чем у исходных форм и одна из самых характерных особенностей гаплоидов – уменьшение размеров всех клеток и органов [1, 2, 3]. В этой связи значительный интерес вызывает феномогеномика количественных признаков этих мелкогабитусных растений, на фоне трёхфеномного гексаплоидного уровня признаков полного гомолога (фактически ресинтезированной мягкой пшеницы и далее T.aestivum озимый; Рассвет-1), из которого они получены, и других образцов мягкой пшеницы [8].

Цель настоящей работы провести феномогеномные и цитологические исследования этих мелкогабитусных растений, в сравнении с исходным T.aestivum AABBDD (2n=42), озимым (Рассвет-1) и другими образцами мягкой пшеницы.

Методика. При проведении феномогеномных исследований количественных признаков сравниваемых растений в фазу технической спелости определяли морфоструктурные показатели колоса. Использовали по 20–35 растений каждого образца. Основное внимание уделяли сложному количественному признаку, определяющему урожайность, – массе зерна с колоса. Подсчёт числа хромосом проводили на микроскопе МБИ-15-2 с использованием пропионово-лакмоидного метода по Каптарю [5].

Результаты и обсуждения. При последующих перeseвах из мелкогабитусных форм выделена яровая мягкая пшеница T.aestivumL. Её также использовали в настоящих исследованиях.

С позиции феномогеномики, если выделившаяся мелкогабитусная форма является гаплоидом, то она должна, как минимум, примерно в два раза уступать мягкой пшенице T.aestivum (2n=42) по своим сложным количественным признакам, определяющим зерновую продуктивность (масса зерна с колоса), потому что гаплоидные формы, как правило, имеют половинный набор хромосом. Сравнительный анализ продукционных признаков колосьев мелкогабитусных мутантов и мягких пшениц дал следующие результаты (табл. 1).

Таблица 1. Продукционные показатели колосьев мелкогабитусных мутантов и мягких пшениц (2008 г.)

Показатель Генотип	Длина колоса, см	Число колосков, шт.	Количество зерновок, шт.	Масса зерна с колоса, г
T.aestivum (озимая) Рассвет-1	8,5	18,9	43,5	2,02
Мелкогабитусный мутант	6,9	16,0	25,4	0,68
T.aestivum (яровая)	9,0	16,4	39,6	1,44
НСР ₀₅	1,0	1,5	4,5	0,30

Так по длине колоса разница между T.aestivum (озимой) и яровой мягкой пшеницей практически не отмечается. У мелкогабитусного мутанта она существенно меньше – 6,9 см. По числу колосков в колосе преимущество за полным гомологом **Рассвет-1**. По озернённости колоса **Рассвет-1** и яровая мягкая пшеницы существенно превосходят мелкогабитусные мутанты, но между ними разница недостоверна. Наибольшая разница между изучаемыми образцами проявляется по массе зерна с колоса. T.aestivum (яровой), как и предполагалось, практически в два раза превышает мелкогабитусные формы: $1,44: 0,68 = 2,12 \approx 2,0$. В то же время, данный показатель у T.aestivum (озимый) уже в три раза выше таковой мелкогабитусных мутантов: $2,02: 0,68 = 2,97 \approx 3,0$.

То же самое отмечается, если заменить Рассвет-1 на мутантную форму озимой мягкой пшеницы, которая выщепилась из шарозерной пшеницы сорта Шарада (макромутантозимый) (табл. 2).

Таблица 2. Продукционные показатели колосьев мелкогабитусных мутантов и мягких пшениц (2010 г.)

Показатель Генотип	Длина колоса, см	Число колосков, шт.	Количество зерновок, шт.	Масса зерна с колоса, г
T.aestivum (озимый) макромутант	8,9	21,1	38,6	1,87
Мелкогабитусный мутант	6,5	13,2	21,3	0,60
T.aestivum (яровая)	9,3	16,2	39,7	1,25
НСР ₀₅	1,2	1,3	9,8	0,57

Между мелкогабитусными мутантами и формами озимой и яровой мягких пшениц, по продукционным признакам, наблюдается такая же картина. И здесь превосходство по всем показателям за образцами мягкой пшеницы, масса зерна с колоса у мелкогабитусных мутантов, в два раза ниже, чем у яровой и в три раза, чем у озимой формы мягкой пшеницы: $1,25: 0,60 = 2,08 \approx 2$; $1,87: 0,60 = 3,12 \approx 3$.

Таким образом, мелкогабитусные растения, в принципе, можно считать гаплоидами мягкой пшеницы. Как известно, во многих учебниках отмечается, что гаплоидные растения отличаются внешним сходством и меньшими размерами, по сравнению с исходными диплоидными формами. Различия в размерах прекрасно видны из рисунка 1.



Рис. 1. Колосья мелкогабитусного мутанта (слева) и *T.aestivum* (справа)

Так колос у *T.aestivum* (яровая) значительно крупнее и достигают длину 10 и более см, тогда как у предполагаемого гаплоида длина в пределах 5–6 см. то есть в два раза меньше. Можно отметить и более крупные зерновки яровой мягкой пшеницы, по сравнению с мелкогабитусными образцами. Аналогичное сходство плодов и различия в размерах между гаплоидными и диплоидными растениями перца отмечали и зарубежные исследователи [4]. Плоды гаплоидных растений перца фенотипически четко походили на плоды исходных диплоидных форм и были практически в 2 раза меньше их.

Очевидно, аллополигаплоид мягкой пшеницы, согласно своегофеномному статусу (в два раза ниже масса зерна с колоса), должен, вероятно, иметь 21 хромосому и обладать высокой стерильностью. Однако предполагаемые гаплоидные растения, несмотря на свои миниатюрные размеры, выделялись хорошо выраженной фертильностью и были весьма плодовиты. При подсчете числа хромосом в мейозе этих мелкогабитусных растений в монаде в метафазе обнаруживается 7 хромосом (рис. 2), и значит в соматических клетках их количество 14. То есть, в действительности, мелкогабитусные мутанты являются не аллополигаплоидами мягкой пшеницы с 21 хромосомой (в классическом понимании), а диплоидными растениями с 14 хромосомами, несмотря на то, что выглядит как уменьшенная копия мягкой пшеницы.

Данное обстоятельство, по-видимому, и предопределяет их высокую фертильность. У яровой мягкой пшеницы в материнской клетке пыльца в редукционном делении можно насчитать 21 пару хромосом и, соответственно, она является совершенно нормальным 42-хромосомным растением (рис. 3).



Рис. 2. Мелкогабитусный мутант. Монада, метафаза, $n=7$



Рис. 3. Яровая мягкая пшеница *T.aestivum*L. Материнская клетка пыльца, редукционное деление, метафаза I, 21 пара хромосом

С позиции феномогеномных исследований мелкогабитусные мутанты, по отношению к яровой мягкой пшенице, представляются гаплоидными растениями. Однако по сравнению гексаплоидными трехгеномными *Рассвет-1* и другим мутантным озимым образцом мягкой пшеницы они являются типичными «монодиплоидными» формами. Эти мелкогабитусные растения ведут себя также как и другие диплоидные источники исходных геномов *T.urartu*Thum. exGandil. *AA*, *Ae.longissima*Schweinf. etMuschl. Eig *BB* и *Ae.tauschi*subs. *strangulatDD*, которые определяли соответствующий дозированный вклад в формирование данного признака у гексаплоидной мягкой пшеницы (*AA+BB+DD*) *T. Aestivum AABBDD* [7]. В частности, масса зерна с колоса у мелкогабитусного мутанта составляла 1/3 такового гексаплоидноготрёхгеномного *Рассвет- 1* и другого озимого образца *T.aestivum*. То есть он, по своим феномогеномным и цитологическим параметрам, соответствует диплоидным источникам исходных геномов (*AA*, *BB* и *DD*) мягкой пшеницы.

В 2011 году проведен сравнительный анализ продуктивности колосьев Рассвет-1 и мелкогабитусных мутантов (табл. 3).

Таблица 3. Продукционные показатели колосьев (2011 г.)

Показатель Генотип	Длина колоса, см	Число колосков, шт.	Количество зерновок, шт.	Масса зерна с колоса, г
Т.аestivum Рассвет-1 (озимая)	8,0	19,0	48,9	2,33
Мелкогабитусный мутант	7,0	15,2	26,8	0,82
НСР ₀₅	0,4	0,7	6,5	0,24

Результаты показали, что мелкогабитусные мутанты по всем признакам, уступают **Рассвет-1**. Учитывая трёхфеномный уровень признака гексаплоидного **Рассвет-1**, вычисляем вклад диплоидного генома или величину определяемого им фенома: $2,33: 3 = 0,78$. Как видно, значение выявленного вклада диплоидного генома в признак гексаплоидной исходной мягкой пшеницы или феном (0,78), весьма близок показателю мелкогабитусного мутанта (0,82). Отсюда можно сделать вывод, что последний обладает однофеномным, равным признаку диплоидного организма, уровнем данного признака. По крайней мере, по массе зерна с колоса, он четко сопоставим с – диплоидным **Т.мопососсит AA** (табл. 4).

Таблица 4. Продукционные показатели колосьев гаплоида и **Т.мопососситL**. в различных условиях возделывания (2011 г.)

Показатель Генотип	2п	Масса зерна с колоса, г			В среднем по генотипу
		1*	2**	3***	
Мелкогабитусный мутант	14	0,82	0,67	0,58	0,69
Т.мопососсит	14	0,78	0,68	0,61	0,69

* – поле № 1 п. Рассвет, ** – поле № 2 п. Рассвет, *** – посев на специально подготовленной грядке возле теплицы ДонГАУ.

Так в табл. 4 представлены данные, полученные 2011 году в разных местах возделывания, где в опытах использовались одновременно и мелкогабитусные мутанты и диплоидный **Т.мопососсит**. Несмотря на некоторые различия, в зависимости от мест возделывания, в среднем, масса зерна с колоса как у мелкогабитусного мутанта, так у диплоидного **Т.мопососсит** одинакова. С позиции феномогеномики количественных признаков мелкогабитусные мутанты по отношению к озимой амфидиплоидной мягкой пшенице – элементарные диплоидные организмы. Они имеют и соответствующее число хромосом. Более того, мы сравнили массу зерна с колосом этих мутантов и **Т.мопососсит** с

– аналогичными показателями *Рассвет-1* и яровой мягкой пшеницами, когда они использовались в совместных опытах (табл. 5).

Таблица 5. Масса зерна с колоса у изучаемых видов образцов пшеницы

Показатель Генотип	2n	Масса зерна с колоса, г				В среднем по генотипу
		2005 г.	2008 г.	2010 г.	2011 г.	
Мелкогабитусный мутант	14	0,68	0,93	0,60	0,69	0,73
<i>T.monococcum</i>	14	0,69	---	---	0,69	0,69
<i>T.aestivum</i> Рассвет-1 (озимая)	42	2,23	2,02	1,87	2,33	2,11
<i>T.aestivum</i> (яровая)	42	---	1,44	1,25	1,38	1,36

За годы исследования средние показатели у мелкогабитусных мутантов и *T.monococcum*, как следует из данных табл. 5, очень близки между собой и существенно отличаются от показателей Рассвет-1 и формы яровой мягкой пшеницы. В то же время разница между образцами с диплоидным набором хромосом (мелкогабитусный мутант и *T.monococcum*) с озимой пшеницей *Рассвет-1* по данному признаку примерно втрое, а у яровой мягкой – вдвое. Это можно показать по средним показателям, используя при этом, как данные мелкогабитусного мутанта, так и диплоидного *T.monococcum*. К примеру: $2,11 : 0,73 = 2,89 \approx 3$ или $2,11 : 0,69 = 3,06 \approx 3$. Относительно двукратного преимущества яровой мягкой – $1,36 : 0,73 = 1,86 \approx 2$ или $1,36 : 0,69 = 1,97 \approx 2$.

Заключение. По итогам феномогенных исследований эти мелкогабитусные мутанты, по отношению к яровой мягкой пшенице, выступают как гаплоидные растения. С другой стороны, они являются элементарными диплоидными 14-хромосомными организмами, которые, как дискретные генетические единицы, в составе сложного генотипа озимой мягкой пшеницы, обеспечивают её количественные показатели. Они, так же как и диплоидные 14-хромосомные носители исходных геномов, вносят сопоставимый вклад в формирование соответствующего количественного признака и обладают достаточной фертильностью, тогда как действительные 21-хромосомные гаплоидные формы должны выделяться высокой степенью стерильности.

Список литературы

1. Гужов Ю. Л. Селекция и семеноводство культурных растений / Ю. Гужов, А. Фукс, П. Валичек. Учебник для вузов. – М.: «Агропромиздат», 1991. – 464 с.
2. Гуляев Г. В. Селекция и семеноводство / Г. В. Гуляев, А. П. Дубинин. Учебник для средних специальных заведений. – 4 изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1987. – 352 с.

3. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции / С. Г. Инге-Вечтомов. Учебник для биол. спец. ун-тов. – М.: Высшая школа, 1989. – 592 с.
4. Ницше В. Гаплоиды в селекции растений /В. Ницше, Г. Венцель. – М.: Колос, 1980. – 128 с.
5. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. – М.: «Агропромиздат», 1988. – 271 с.
6. Романов Б. В. Введение в феномогеномику количественных признаков рода *Triticum*. – Персиановский, 2010. – 136 с.
7. Романов Б. В. Феномогеномика количественных признаков пшеницы. – LAP LAMBERT Academic Publishing. – Saarbrücken. – 2011. – 180 с.
8. Романов Б. В. Гомология у видов пшениц в связи с феномогеномикой их количественных признаков / Б. В. Романов, А. П. Авдеенко // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 1. (электронный журнал) URL: www.science-education.ru/101-5586.

Рецензенты:

Титаренко А. В, доктор сельскохозяйственных наук, с.н.с., заведующий отделом селекции и семеноводства зерновых и зернобобовых культур Донского НИИ сельского хозяйства РАСХН, Ростовская область, Аксайский район, п. Рассвет.

Усатов А. В., доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом изменчивости генома НИИ биологии Южного Федерального Университета, г. Ростов-на-Дону.