

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ДЕПАРТАМЕНТ КАДРОВОЙ ПОЛИТИКИ И ОБРАЗОВАНИЯ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧЕРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
МОСКОВСКАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ
имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

на тему: Цитогенетическая характеристика сорта
Звезда

Исполнитель: студент 505 группы
агрономического факультета
Мордовских Михаил Юрьевич
Руководитель: Соловьев А.А.

Москва 2004

<http://yadyra.ru>

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение сельскохозяйственного производства в значительной мере зависит от создания новых высокоурожайных сортов, соответствующих интенсивным технологиям. Однако выведению таких сортов в значительной мере препятствует обеднение генофонда возделываемых культур. В настоящее время основным исходным материалом для селекции служит сравнительно небольшое число наиболее продуктивных сортов и гибридов возделываемых культур.

Так, М. Фельдман и Е. Сирс [31] подчеркивают, что генетическое разнообразие пшеницы, накапливавшееся свыше 10 тыс. лет, резко сократилось, и генетический материал, необходимый для дальнейшего ее улучшения, практически исчерпан. Возделывание в мире сравнительно небольшого числа наиболее интенсивных сортов мягкой пшеницы, а также использование их при выведении новых сортов привели к резкому сокращению генофонда культуры, что в свою очередь повысило опасность гибели урожая на больших площадях в результате эпифитотий. Происходит эрозия генетического материала, вызванная исчезновением стародавних сортов и форм, уступающих по урожайности интенсивным, но обладающих определённой устойчивостью к болезням, неблагоприятным и стрессовым факторам.

В связи с этим реликтовые и дикорастущие сородичи мягкой пшеницы являются неисчерпаемым кладезем новых и полезных генов для ее улучшения, а интрогрессия хозяйственно-ценных генов от сородичей пшеницы в ее геном чрезвычайно актуальной. Создание коллекции мягкой пшеницы с идентифицированным чужеродным материалом является несомненно важным шагом как в освоении генетических ресурсов, так и в ускорении селекционного процесса. В конечном итоге именно благодаря наличию и использованию доноров, хорошо изученных в генетическом отношении по признакам продуктивности, устойчивости к болезням, неблагоприятным факторам среды, возможно создание

высокопродуктивных конкурентоспособных сортов и гибридов с наименьшими затратами труда и времени.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Общая характеристика и систематика рода *Triticum* (L.)

Пшеница (*Triticum* L.) — травянистое, однолетнее растение сем. злаковых. Соцветие — колос. Стержень колоса состоит из члеников, на уступах которых расположены одиночные сидячие многоцветковые (2—5 цветков) колоски. Плод — зерновка. Растение самоопыляющееся, но иногда наблюдаются случаи перекрестного опыления при помощи ветра. Род включает 27 дикорастущих и культурных видов [6].

Общая систематика рода *Triticum* представлена в таблице 1.

2. Озимая мягкая пшеница

Пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L.) по данной систематике относится к подроду *Triticum*, секции *Triticum*, с геномным составом A^*BD . Она является наиболее широко распространенной из всех пшениц на земном шаре и основной хлебной культурой. Ее ареал охватывает пять континентов, она возделывается на землях, расположенных ниже уровня мирового океана, и поднимается до высоты 4000 м. Все это свидетельствует об исключительной пластичности мягкой пшеницы.

По образу жизни мягкая пшеница разделяется на озимые и яровые формы, полуозимые и поздние яровые, а также двуручки. В РФ наибольшее распространение получила озимая мягкая пшеница.

Таблица 1. Система рода *Triticum* L.

Общая хозяйственная характеристика	2n	Подрод <i>Triticum</i>			Подрод-гомолог <i>Boeoticum</i> Migusch. et Dorof.		
		Секция	Геномный состав	Виды	Секция	Геномный состав	Виды-гомологи
Однозернянки	14	<i>Urartu</i> Dorof. et A. Filat.	A ^u	<i>T. urartu</i> Thum. ex Gandil.	<i>Monococcon</i> Dum.	A ^b	<i>T. boeoticum</i> Boiss.
	14		»	Нет		»	<i>T. monococcum</i> L.
	14		»	»		»	<i>T. sinskajae</i> A. Filat. et Kurk.
Полбы	28	<i>Dicoccoides</i> Flaksb.	A ^u B	<i>T. dicoccoides</i> (Koern. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf.	<i>Timopheevii</i> A. Filat. et Dorof.	A ^b G	<i>T. araraticum</i> Jakubz.
	28		»	<i>T. dicoccum</i> (Schränk) Schuebl.		»	<i>T. timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk.
	28		»	<i>T. karamyshevii</i> Nevski		»	Нет
Тетраплоиды с легким обмолотом	28		»	<i>T. ispahanicum</i> Heslot		»	»
	28		A ^u B»	<i>T. turgidum</i> L.		A ^b G	»
	28		»	<i>T. jakubzineri</i> Udacz. et Schachm.		»	»
	28		»	<i>T. durum</i> Desf.		»	»
	28		»	<i>T. turanicum</i> Jakubz. »		»	»
	28		»	<i>T. aethiopicum</i> Jakubz.		»	»
28		»	<i>T. polonicum</i> L.		»	»	

Окончание табл. 1

Общая хозяйственная характеристика	2n	Подрод <i>Triticum</i>			Подрод-гомолг <i>Boeoticum</i> Migusch. et Dorof.			
		Секция	Геномный состав	Виды	Секция	Геномный состав	Виды-гомологи	
Тетраплоиды с легким обмолотом	28		A ^u B	<i>T. persicum</i> Vav. (= <i>T. Carthlicum</i> Nevski)		A ^b G	<i>T. militinae</i> Zhuk. et Migusch.	
	28	Группа Aegilotricum	DA ^u	<i>T. erebuni</i> * Gandil.	Группа Aegilotricum	DA ^b	<i>T. palmovae</i> * G. Ivanov	
Спельты	42	Triticum	A ^u BD	<i>T. spelta</i> L.	<i>Kiharae</i> Dorof. et Migusch.	A ^b GD	<i>T. kiharae</i> * Dorof. et Migusch.	
	42		»	<i>T. macha</i> Dekapr. et Menabde		»	Нет	
	42		»	<i>T. vavilovii</i> Jakubz.		»	»	
	Гексаплоиды с легким обмолотом	42		»	<i>T. compactum</i> Host		»	»
		42		»	<i>T. aestivum</i> L.		»	<i>T. miguschovae</i> * Zhir.
42			»	<i>T. sphaerococcum</i> Perciv.		»	Нет	
	42		»	<i>T. petropavlovskiy</i> Udacz. et Migusch.		»	»	
Типа спельт	42				<i>Timopheevii</i> A. Filat. et Dorof.	A ^b A ^b G	<i>T. zhukovskiy</i> Menabde et Eziczjan	

* Синтетические виды.

2.1. Ботаническая характеристика.

Корневая система пшеницы мочковатая, сильно развитая; представлена первичной корневой системой, развивающейся из зародыша, и вторичной — из узлов кущения. В зависимости от условий произрастания корни могут проникать на глубину 1,5—2 м и более.

Стебель — соломина, состоящая из 5—7 междоузлий. Высота его в зависимости от вида, сорта и условий произрастания колеблется от 50—70 до 200 см. Растение пшеницы способно образовывать большое количество стеблей из почек, расположенных в узле кущения.

Лист пшеницы состоит из влагалища и листовой пластинки. На месте перехода влагалища в пластинку имеется тонкая бесцветная пленка, называемая язычком. Язычок плотно прилегает к стеблю, препятствуя проникновению воды внутрь листового влагалища. У основания листового влагалища расположены ушки (рожки), охватывающие стебель. Язычок у пшеницы короткий, ушки небольшие, ясно выраженные, часто с ресничками.

Соцветие — колос, который состоит из членистого колосового стержня и колосков. Колосовой стержень коленчатый, на каждом колене размещается по одному колоску. Колосок состоит из двух колосковых чешуй, одного или нескольких цветков. В каждом цветке по две цветковые чешуи — нижняя (наружная) и верхняя (внутренняя). Колосковая чешуя у остистых сортов несет ость.

Между цветковыми чешуями находятся завязь с двумя перистыми рыльцами и три тычинки. У основания завязи размещаются две бесцветные пленки — лодикулы.

Плод — зерновка, которую в повседневном обиходе называют зерном. Размеры зерна в зависимости от вида, сорта и условий выращивания могут колебаться [5].

2.2. Биологические особенности озимой пшеницы.

Продолжительность вегетации у озимой пшеницы с учетом зимнего покоя — от 180 — 200 дней на крайнем юге до 300—360 дней на севере Нечерноземной зоны европейской части страны.

Весь период вегетации озимой пшеницы с учетом роста и формирования отдельных органов растений разделяют на фенологические фазы (фазы вегетации).

В жизненном цикле пшеницы А. И. Носатовский [13] выделяет следующие фенологические фазы: набухание и прорастание семян, всходы, кущение, выход в трубку (стеблевание), колошение, цветение и оплодотворение, формирование зерна, молочная, восковая и полная спелость зерна.

Набухание и прорастание семян. В семенах, попавших в почву, по мере поглощения влаги происходят сложные физико-биохимические процессы, обуславливающие переход из состояния покоя к активной жизнедеятельности. Продолжительность фазы набухания и прорастания в зависимости от температуры, глубины заделки семян, физических свойств почвы, ее влажности и других факторов составляет 7-25 дней и более.

Всходы. Появление на поверхности почвы coleoptilia и первого листа означает вступление растений пшеницы в фазу всходов. При достижении поверхности почвы рост coleoptilia приостанавливается и из его трубочки появляется первый лист в виде шпильца.

При благоприятном сочетании факторов окружающей среды первый лист заканчивает свой рост на 7-15-й день после появления на поверхности почвы. По мере накопления пластических веществ благодаря фотосинтезу на 3-7-й день после развертывания первого листа из его пазухи появляется второй лист. С интервалами 3-6 дней появляется третий, а затем и четвертый листья. Во время роста третьего листа идет интенсивное разрастание корневидного междоузлия, закладываются точки роста боковых побегов.

Общая продолжительность фазы всходов озимой пшеницы при нормальных сроках посева в условиях достаточного количества продуктивной влаги и благоприятного температурного режима колеблется от 15 до 25 дней.

Кущение. Начало фазы кущения обычно определяют появлением из пазухи нижнего листа первого бокового побега. Он формируется из почки, лежащей у основания влагалища первого листа главного стебля. По мере роста листа первого бокового побега из почки, лежащей у основания второго листа главного побега, формируется второй боковой побег, появляющийся из пазухи второго листа через 5-7 дней после первого.

В фазе кущения одновременно с образованием боковых побегов идет интенсивный рост корневой системы. Одновременно с закладкой и ростом боковых побегов формируется узловая (или вторичная) корневая система.

За осенний период вегетации растения озимой пшеницы обычно успевают сформировать 2-3, за весенний — 1-3 боковых побега. К началу фазы выхода в трубку большая часть сортов озимой пшеницы при нормальных сроках посева и принятой густоте стояния обычно имеют 4-6 побегов.

Выход в трубку. Рост стебля начинается с удлинения нижнего междоузлия, находящегося над узлом кущения. Раньше начинает расти стебель главного, а через некоторое время и стебли боковых побегов. Интенсивно нарастает ассимилирующая поверхность в результате роста стеблевых листьев. Листовая поверхность увеличивается на протяжении всей фазы выхода в трубку, к началу цветения этот процесс прекращается. Фаза выхода в трубку характеризуется и интенсивным разрастанием первичной и вторичной корневой системы.

Окончанием фазы выхода в трубку принято считать появление колоса из пазухи последнего листа. В зависимости от условий произрастания она длится от 20-25 до 30-35 дней.

Колошение. Начинается с появлением колоса из пазухи последнего листа. Первыми появляются колосья на главных побегах, через 1-3 дня — на боковых. В пределах одного растения колошение длится 3-4 дня, а на поле выколашивание заканчивается за 5-6 дней.

Цветение и оплодотворение. Цветение у озимой пшеницы начинается на 2-3-й день после выколашивания. Продолжительность цветения одного колоса 3-5 дней, поля 6-7 дней. Наибольшее число раскрывается на 2-3-й день после начала цветения.

Пшеница относится к самоопыляющимся растениям, однако не исключается возможность перекрестного опыления. Пыльца, не попавшая на рыльце пестика, довольно быстро теряет жизнеспособность, тогда как рыльце пестика сохраняет восприимчивость к пыльце до 6-8 дней.

Формирование зерна. После оплодотворения начинается формирование оболочек и эндосперма зерна. При благоприятных условиях на 10-12-й день после оплодотворения заканчивается формирование оболочек и эндосперма.

Молочная спелость. В этот период интенсивно отмирает вегетативная масса, и к его концу только верхний лист сохраняет зеленую окраску. Продолжительность молочной спелости в зависимости от погодных условий колеблется от 10-12 дней на юге страны до 14-18 на севере.

Восковая спелость. Полностью прекращается поступление зольных веществ в зерно, резко падает накопление углеводов и азотистых веществ по сравнению с предшествующим периодом. Продолжительность восковой спелости зерна зависит от погодных условий, особенностей сорта, приемов возделывания и колеблется от 5-6 до 8-10 дней.

Полная спелость. Сроки наступления полной спелости зависят от многих факторов, среди которых немалая роль принадлежит почвенно-климатическим условиям, приемам возделывания, сортовым особенностям и т. д.

2.3. Происхождение мягкой пшеницы.

Мягкая пшеница, как и все аллополиплоидные виды трибы *Triticeae* сама является отдаленным гибридом.

Серия анеуплоидных, в том числе моносомных, линий мягкой пшеницы сорта Чайниз Спринг была получена Сирсом. На основании анализа результатов различных комбинаций скрещиваний растений, нуллисомных по одной хромосоме, с растениями, тетрасомными по другой, он разработал ортогональную классификацию хромосом пшеницы по семи гомеологичным группам *A*-, *B*- и *D*-геномов.

Поиску непосредственных предков мягкой пшеницы были посвящены многочисленные исследования. Первым был идентифицирован донор *D*-генома. Так, еще в 20-х гг. было обнаружено, что мягкая пшеница и *Ae. cylindrica* содержат один общий *D*-геном. На основании изучения морфологии хромосом, анализа географического распространения видов и устойчивости к ржавчине Н. Патак предположил, что донором *D*-генома является диплоидный вид *Aegilops squarrosa* (= *Ae. tauschii*). Все последующие исследования подтвердили эту гипотезу. Иммунохимический и электрофоретический анализ глиадинов показал, что в синтезе мягкой пшеницы участвовал *Ae. squarrosa* подвид *strangulata*.

Предком *A*-генома сначала считали культурную однозернянку *T. monosocum* или дикорастущую *T. boeoticum*. Однако данные сравнительного иммунохимического анализа белков и изоферментов, результаты цитогенетических исследований и RFLP-анализа ядерной ДНК свидетельствуют в пользу того, что донором *A*-генома культурных пшениц была дикая однозернянка *T. urartu* или близкая ей форма.

Происхождение *B*-генома до сих пор вызывает ожесточенные споры. Несмотря на большое число исследований, этот вопрос окончательно не решен. Предками *B*-генома считали *Ae. speltoides*, *Ae. bicornis*, *Ae. longissima*, *Ae. searsii*, *Ae. sharonensis* виды рода *Agropyron* и даже *T.*

urartu. В результате цитогенетического и биохимического анализа пырей, *T. urartu* и *Ae. bicornis* были отклонены как возможные доноры *B*-генома. Большинство фактов свидетельствуют о том, что предком *B*-генома был диплоидный вид секции *Sitopsis*, наиболее вероятно *Ae. speltoides* или *Ae. longissima*. Некоторые исследователи, однако, предполагают, что форма, послужившая непосредственным источником *B*-генома, в настоящее время вымерла [3].

3. Отдаленная гибридизация пшеницы

В нашей стране наблюдается значительное обеднение генофонда мягкой пшеницы из-за того, что довольно много новых сортов озимой и яровой пшеницы получено с участием очень ограниченного числа сортов (Безостая 1, Мироновская 808 и Саратовская 29) [12].

За счет сужения круга сортов, использующихся в качестве исходного материала при селекции, генетический материал мягкой пшеницы по таким признакам, как иммунитет к различным болезням, устойчивость к неблагоприятным условиям внешней среды и продуктивность практически исчерпан. [3].

Ввиду того, что количественные и качественные изменения генетической информации одного вида ограничены, одним из путей наиболее существенного обогащения генофонда культурных растений может быть обмен или добавление культурному виду генов, хромосом или геномов диких сородичей.

Дикие злаковые (пырей, элимус, эгилопс, гайнальдия и др.) имеют ценные свойства (зимостойкость, засухоустойчивость, устойчивость к болезням), слабо выраженные или отсутствующие у культурных растений. Важная задача селекционно-генетической науки заключается в использовании ценных свойств и признаков дикорастущих растений. Иногда трудно предсказать, что может дать тот или иной дикорастущий вид.

Гибриды с новыми хозяйственно-ценными признаками могут создаваться не только в результате вовлечения в скрещивание дикорастущих растений, но и путем скрещивания различных видов или родов культурных растений между собой. В селекции довольно широко используется метод внутривидовой гибридизации, который дает практически ценные результаты. Однако генетические возможности при внутривидовой гибридизации ограничены, так как полученные гибриды не могут выйти за рамки видовых особенностей данных растений. Генетический потенциал хозяйственно ценных признаков при внутривидовой гибридизации имеет предел, в то время как отдаленные скрещивания между различными видами и особенно между различными родами обогащают культурный вид новыми ценными признаками и свойствами [20].

4. Несовместимость при отдаленной гибридизации.

Однако при отдаленной гибридизации, особенно при скрещивании представителей различных родов, исследователь сталкивается с трудностями, отсутствующими при близкородственных скрещиваниях. В процессе эволюции у растений выработались механизмы, препятствующие скрещиванию между отдаленными видами и родами. Несовместимость проявляется в виде различных реакций со стороны материнского растения, препятствующих нормальному процессу оплодотворения и образования семян. При естественном образовании семян у самоопыляющихся и перекрестноопыляющихся растений, а также при близкородственной (внутривидовой) гибридизации осуществляются три последовательных процесса: прорастание пыльцы на рыльце материнского растения, двойное оплодотворение, развитие зародыша и эндосперма семени.

Эти процессы у гибридов от скрещивания близкородственных видов обычно протекают нормально, без каких-либо отклонений и нарушений.

При отдаленной гибридизации эти процессы оказываются сильно нарушенными. Банникова В.П. [4], Худяк М.И. и Банникова В.П. [19], Поддубная-Арнольди В. А. [15], изучавшие процессы оплодотворения и эмбриогенеза при отдаленной гибридизации, выделяют следующие нарушения:

- 1) пыльца не прорастает на рыльце материнского растения;
- 2) пыльца прорастает, но прекращает свой рост на ранних стадиях, не достигая зародышевого мешка;
- 3) пыльцевая трубка проникает в зародышевый мешок, но оплодотворения не происходит;
- 4) оплодотворение происходит, но зародыш гибнет на ранних стадиях;
- 5) зародыш прорастает, но проростки гибнут на той или иной стадии.

Причем обычно наблюдается не одно, а несколько таких нарушений.

Большинство авторов считают, что успех скрещивания во многом зависит от развития гибридного эндосперма. При формировании гибридного эндосперма нарушения могут происходить на самых ранних стадиях.

Существуют определённые генетические системы оказывающие влияние на скрещиваемость. Так при наличии у одного из видов системы самонесовместимости этот вид будет подавлять развитие пыльцы на рыльце того вида, который не имеет генов самонесовместимости. При реципрокном скрещивании торможение роста пыльцы отсутствует и можно получить гибриды. Следует заметить, что гены несовместимости могут контролировать весь процесс до образования зиготы: от начала реакции пыльцевого зерна на ткань рыльца и столбика до слияния ядер в зародышевом мешке. В последнем случае гены несовместимости могут препятствовать слиянию ядра спермия и яйцеклетки в зародышевом мешке [11].

При скрещивании мягкой пшеницы с рожью было установлено, что на их скрещиваемость влияют рецессивные и доминантные гены (*kr1*, *kr2*, *Kr1*, *Kr2*). Предполагают, что доминантные гены (*Kr1*, *Kr2*) подавляют рост пыльцевых трубок пыльцы ржи в столбике пшеницы. А. Ислам с сотр. (Islam et. al., 1981) пришли к выводу, что эти же гены оказывают влияние на скрещиваемость пшеницы с ячменем. В том случае, когда за материнское растение бралась пшеница, у которой в хромосомах 5A и 5B локализованы эти гены, завязываемость гибридных зерновок составляла всего лишь 1,3%; в обратной же комбинации (ячмень X пшеница) завязываемость значительно выше (15,4%). Было также установлено, что сорта пшеницы хорошо скрещиваются как с рожью, так и с ячменем. Этот факт, очевидно, связан с влиянием *Kr*-генов. Яровая пшеница сорта Чайниз Спринг имеет в геноме рецессивные *Kr*-гены, что обуславливает ее очень хорошую скрещиваемость при отдаленной гибридизации. Поэтому Чайниз Спринг бралась в качестве одной из родительских форм почти всеми исследователями для самых различных межродовых скрещиваний [12].

5. Интрогрессии чужеродного генетического материала в геном мягкой пшеницы.

Наличие барьера нескрещиваемости для некоторых видов по причинам перечисленным ранее, а так же стерильность гибридов в результате отсутствия конъюгации между пшеничными и чужеродными хромосомами, затрудняют интрогрессию полезных генов от видов принадлежащих к родам *Triticum* L., *Aegilops* L., *Agropyron* Gaertn., *Haynaldia*, *Secale* L. и *Hordeum* L в геном мягкой пшеницы.

Стратегия, которую необходимо применить в каждом конкретном случае скрещивания, зависит от наличия или отсутствия гомологичных геномов скрещиваемых видов и числа хромосом у них. В том случае, если скрещиваемые виды имеют один или более общих геномов, передача чужеродного материала может осуществиться достаточно легко. Для более

отдаленных видов перенос генетической информации возможен только при индукции гомеологической конъюгации или через создание амфидиплоидных форм. Однако и в этом случае успех зависит от степени родства хромосом пшеницы и чужеродного вида и фертильности получаемых гибридов.

К настоящему времени разработаны специальные (стандартные) методы, облегчающие перенос генов от видов, не имеющих родственных геномов с мягкой пшеницей. На сегодняшний день по своей значимости для селекции, несмотря на разработку новейших методов переноса, управление гомеологичным синапсисом в мейозе, остается основным и самым распространенным методом получения рекомбинантных форм при отдаленной гибридизации.

5.1. Использование генетической системы контроля конъюгации.

Поскольку главным фактором, обеспечивающим нормальный синапсис у мягкой пшеницы считается хромосома *5B*, длинное плечо которой несет ген *Ph*, то для нарушения правильной конъюгации и создания условий при которых могли бы конъюгировать гомеологичные хромосомы, как правило, прибегают к анеуплоидам по *5B* хромосоме. Хромосомы *2A*, *3A*, *3B*, *3D* также регулируют осуществление нормального синапсиса у пшеницы, но ведущая роль все же принадлежит *5B* хромосоме [34].

Синтезируя и конструируя генотипы мягкой пшеницы на хромосомном уровне с избытком генов-стимуляторов или генов-супрессоров, можно управлять процессом конъюгации. Использование в скрещивании с видами-донорами линий мягкой пшеницы моно-*5B*, нулли-*5B*-тетра-*5D*, моно-*5B*-три-*5A*, и *5B*-*5D* замещенных линий позволяет конъюгировать гомеологичным хромосомам и добиваться интрогрессии чужеродных генов [22].

Впоследствии исследователи стали чаще прибегать к использованию мутанта с делецией по локусу *Ph*, который был получен Сирсом в 1977 г. и позволяет индуцировать повышения частот конъюгации гомеологов. Три известных на сегодняшний день гена *ph* мутантов мягкой пшеницы, по силе своего действия распределяются следующим образом *Ph1b* (*5BL*)>*Ph2b* (*3DS*) >*Ph2a*. [22].

Использование этих мутантов, особенно *Ph1b*, позволило достичь конъюгации гомеологов и интрогрессировать в геном пшеницы гены устойчивости к вирусу штриховатой мозаики от *Agropyron*, гены устойчивости к бурой ржавчине от *Ae.speltoides*, получить *1B/1R* транслокацию, *1U* детерминирующую устойчивость к мучнистой росе, бурой и листовой ржавчинам [32].

5.2. Использование генетических мостиков.

Достаточно часто, когда непосредственная передача генов донора затруднена, для получения интрогрессированных линий используют генетический мостик, например, для передачи генов *T.monococcum* и *T.dicoccum* в мягкую пшеницу использовали мостик: гибрид F_1 (*T.dicoccum* х *T.monococcum*). Возникали растения сочетающие генетическую информацию 3 видов. Показана также высокая эффективность использования «тритикального мостика» для переноса от ржи в пшеницу таких признаков и свойств как продуктивность, устойчивость к ржавчинам, мучнистой росе и головне, солевыносливость и др. [18].

5.3. Виды-супрессоры гомологичной конъюгации.

Альтернативный способ индукции гомеологичной конъюгации состоит в использовании некоторых чужеродных генотипов, несущих гены-супрессоры, которые подавляют действие хромосомы *5B* мягкой пшеницы.

Так, с использованием стимулирующего действия генотипа *Ae. speltoides*, Рилей и сотр. передали мягкой пшенице ген устойчивости к

желтой ржавчине от *Ae.comosa*. Процесс передачи состоял в первоначальном скрещивании сорта Chinese Spring с донором *Ae.comosa*, в двухкратном беккроссировании растений мягкой пшеницей и отбором фертильного устойчивого потомства, которое было скрещено с *Ae.speltoides* для индукции гомеологичной рекомбинации. Полученные гибриды трижды беккроссировались мягкой пшеницей, после чего было отобрано устойчивое к желтой ржавчине растение, давшее начало сорту *Compair*. Дальнейшие исследования установили наличие рекомбинантной хромосомы, состоящей из короткого плеча с геном устойчивости, центромеры и длинного плеча из сегмента второй хромосомы *Ae.comosa* и хромосомы 2D мягкой пшеницы [22].

Аналогичной системой стимуляции гомеологичной конъюгации обладают некоторые генотипы ржи. Более того, различные виды ржи различаются по силе влияния на гомеологичную конъюгацию в следующем порядке: *S.cereale* > *S.vavilovii* > *S.anatolicum* > *S.africanum* [29]. Впоследствии были выявлены некоторые генетические особенности, присущие геному ржи. Было выяснено, что дупликация генома *R* у пшенично-ржаных гибридов также может быть эффективным методом повышения обменов между гомеологичными хромосомами [25].

У тетраплоидных видов *A.michnoi* и *A.desertorum* обнаружена генетическая изменчивость по аллелям супрессоров *Ph* локуса, при этом супрессор первого вида более сильный, чем второго. Аналогичным полиморфизмом по способности конъюгировать с хромосомами пшеницы обладают и другие виды пырея - *A.cristatum*, *Thinopyrum ponticum*, *Th.intermedium* (*Thinopirum* синоним *Agropyron*). Яцко В.П. и Ячевской Г.Л. в популяции полиплоидного вида *Agropyron intermedim* ($2n=42$) (пырей сизый) также выявлен полиморфизм [22].

В некоторых случаях стимуляции конъюгации можно достичь при использовании ядерно-цитоплазматических взаимодействий, например, цитоплазма *T.timopheevii* способна повышать частоту конъюгации

хромосом ржи и пшеницы по сравнению с цитоплазмой *T.aestivum*. Некоторые биотические и абиотические факторы могут также использоваться для воздействия на процессы конъюгации и рекомбинации во время мейоза. Накоплено достаточно факторов о влиянии повышенных и высоких температур на процесс мейоза [22].

5.4. Синтез амфидиплоидов.

Особого внимания исследователей в создании новых генотипов заслуживает синтез амфидиплоидных форм (АД) форм или синтетических пшениц и их дальнейшее применение в качестве исходного материала. В первую очередь это относится к пшенично-ржаным АД.

Для улучшения мягкой пшеницы используют скрещивание гексаплоидных и октоплоидных тритикале с гексаплоидной и тетраплоидной пшеницей. В этом случае преследуют цель получить *1BL/1RS* транслокацию, которая детерминирует устойчивость к болезням и насекомым и несет гены, повышающие урожай зерна [28]. Проблема состоит как в расширении генетических источников такой селекционно важной транслокации, так и в направленном ее получении. Дело в том, что при скрещивании тритикале с пшеницей спонтано происходит процесс разрыва присутствующих унивалентных хромосом $1R$ и $1B$, по центромерам и слияния телоцентриков в новую $1B/1R$ хромосому. Как правило, в результате подобных скрещиваний случаются и другие не гомеологичные транслокации, приводящие к нежелательным селекционным последствиям, [3].

Для направленного получения транслокации $1B/1RS$ синтезирован "уникальный генотип" тритикале от скрещивания нуллисомного по $1B$ и дисомного по $1D$ генотипа сорта Langdon (*T.durum*) инбредной линией диплоидной ржи. Использование этого тритикале в скрещиваниях с пшеницей приводит к повышенной передаче $1RS$ хромосомы потомству [26].

Таким образом, можно считать, что на сегодняшний день задача по направленному получению такой транслокации успешно решается. Из других изученных транслокаций, селекционное значение имеют $4BL/5R$, несущая гены, эффективно усваивающие медь, $2RL/2BS$, $6RL/6B$, $6RL/4B$, $6RL/4A$, детерминирующие устойчивость к гессенской мухе [22].

5.5. Создание форм мягкой пшеницы с чужеродными дополнениями.

Идеальным методом достижения переноса чужеродных генов, по мнению, Дж. Федака с соавт., является получение полной серии дополненных линий. Существует несколько стандартных способов получения таких линий.

Наиболее распространенным считается способ беккроссирования гибридов или амфидиплоидов мягкой пшеницей. Этот метод является самым эффективным, и таким способом были созданы серии линий мягкой пшеницы с дополненными хромосомами *Secale cereale* и *Thinopyrum* и некоторыми видами рода *Aegilops*, и *Haynaldia villosa* [22].

Несколько модифицированных способов ускоряющих получение дополненных линий предложено Ячевской Г.Л. [23]. Сущность метода заключается в скрещивании гибридных растений после первого беккросса с амфидиплоидными формами. Вероятность выделения дисомнодополненных растений в этом случае можно повысить, если вести цитологический отбор в потомстве растений с 2-4 чужеродными дополненными хромосомами [23].

В некоторых случаях, когда исследователь располагает моносомнодополненной формой мягкой пшеницы, возможно ее опыление пыльцой видов (например, *H. bulbosum*, *Zea mays*, *Sorghum bicolor*, *Pennisetum glaucum*), хромосомы которых хорошо элиминируются в процессе развития зародыша. Полученные таким способом гаплоиды

колхицинируют и получают дисомно дополненное растение с чужеродными хромосомами [22].

Самоопыление моносомно дополненных растений используют для получения дисомно дополненного потомства, но к сожалению чужеродная хромосома иногда редко передается через пыльцу, и эффективность такого приема не всегда высока, а иногда и безуспешна [22].

Как отмечено при скрещивании гептаплоидных растений (*T.aestivum* x *Psathyrostachys huashanica*) с пшеницей, направление скрещивания также может повысить выход моносомно дополненных форм. Так, если использовать гибридные растения в качестве опылителя, то выход дополненных растений вдвое выше (24,2%), чем при использовании их в качестве материнских форм (12,8%) [22].

В последнее время для создания дополненных и других анеуплоидных линий исследователи все чаще прибегают к использованию андрогенеза в культуре *in vitro* [36]. Спонтанное или искусственное удвоение числа хромосом у регенерантов приводит к получению гомозигот с чужеродным материалом. Эффективность такого метода в несколько раз выше традиционных. С использованием этого метода получена линия с интрогрессированной устойчивостью к желтой ржавчине от пырея удлиненного.

Генотипы с дополненными хромосомами широко используются не только для хромосомной локализации и картирования генов, но и для установления филогенетических связей, в молекулярно-генетических исследованиях при поиске конкретных последовательностей ДНК, маркирующих структурные гены, в первую очередь, гены устойчивости к болезням. К сожалению, не все дополненные формы мягкой пшеницы достаточно фертильны и стабильны.

Очень часто дополненные хромосомы у линий теряются из-за низкой передачи их через гаметы. Нестабильность дополненных линий сильно ограничивает их применение. Для преодоления такого препятствия в

генотип мягкой пшеницы иногда включают транслоцированные хромосомы, содержащие гены преимущественного наследования. Таким свойством обладают некоторые хромосомы *A. elongatum*. Аналогичным действием обладает длинное плечо 4S хромосомы *Ae.sharonensis*, обозначенное 4S^l [22].

Дополненные формы мягкой пшеницы успешно используются в селекционном процессе и для получения замещенных форм растений. Сирс, а впоследствии и другие исследователи использовали предмейотическое облучение чужероднодополненных растений для передачи мягкой пшенице генов устойчивости от «дикаря» [22].

5.6. Выделение замещенных форм мягкой пшеницы.

Целенаправленное получение чужеродно замещенных линий процесс сложный и требует наличия моносомных линий и серии дисомно дополненных линий мягкой пшеницы. При создании линий мягкой пшеницы с замещенными чужеродными хромосомами используют дисомно дополненные линии мягкой пшеницы, которыми опыляют моносомную серию преобразуемого сорта пшеницы, замещая определенной чужеродной хромосомой хромосому пшеницы.

Выделение замещенных линий с чужеродными хромосомами может происходить спонтанно при скрещивании АД с мягкой пшеницей по маркерным морфологическим и цитологическим признакам, или при пыльников гибридов. Быстрый способ получения дисомных чужеродно замещенных линий непосредственно от скрещивания с амфидиплоидом описан у Кота (1985). Необходимым условием этого метода является знание гомеологии пшеничной и чужеродной хромосом по которым будет идти работа. Метод включает получение нуллисомного амфидиплоида от скрещивания монотелосомной линии пшеницы с диплоидным чужеродным видом и двухкратного опыления монотелосомной линией. В потомстве отбирают растения с дисомным и дителосомным замещением. Таким

способом авторами получено замещение хромосомы *6B* мягкой пшеницы на 6 хромосому *Ae.longissima* [22].

Процесс выделения замещенных линий значительно облегчается, если хромосомы несут гены-маркеры. В этом случае выделение монотелосомиков и моносомиков проводят по фенотипическим эффектам маркеров [21]. Так, например, гены *Vrn*, *Q* и *B1*, локализованные на длинном плече хромосомы *5A* использовались как маркеры для получения замещенных линий по хромосоме *5A*. Дисомные замещенные растения отбирались по фенотипу неспельтоидного колоса или остистого колоса (если донорский сорт был остистым).

В тех случаях, когда виды-доноры имеют отличные от пшеницы блоки компонентов глиадинов и глютеинов, или другие молекулярные маркеры, их также можно использовать для идентификации замещенной или дополненной хромосомы [1]. Последнее время чаще применяют сочетание нескольких методов для определения чужеродных интрогрессий с использованием фрагментов рестрикции ДНК (ПДРФ = RELF) и фрагментов амплификации ДНК (ПДАФ = AFLP).

В замещенных линиях хромосомы чужеродных видов могут компенсировать некоторые хромосомы пшеницы. Специфичность компенсации может указывать на наличие гомеологии между пшеничными и чужеродными хромосомами и свидетельствовать об общности их происхождения. Для выяснения гомеологии хромосом чужеродного вида и пшеницы фиксируют не только способность замещать определенные хромосомы, но также используют дифференциальную окраску хромосом, изозимные маркеры, а в последнее время молекулярные методы диагностики.

При замещении чужеродной хромосомой ее пшеничных гомеологов можно выяснить ее влияние на морфологию и некоторые количественные признаки и тем самым выявить наиболее ценные замещения для улучшения пшеницы [22].

5.7. Использование соматклональной изменчивости.

Явление соматклональной изменчивости в культуре ткани также может использоваться в качестве метода для переносов чужеродного генетического материала, особенно в тех случаях, когда мейотическая рекомбинация скрещиваемых видов ограничена. Хромосомные перестройки, которые возникают в процессе деления соматических клеток могут привести к транслокации чужеродной ДНК в хромосомы культурного вида. Воздействие различными внешними факторами (температура, облучение невысокими дозами радиации) может способствовать увеличению частоты индуцируемых перестроек. Подобным способом осуществлена интрогрессия в геном доминантного гена устойчивости к злаковой нематоды находящегося на *6R* хромосоме ржи [24].

5.8. Явление цитомиксиса.

Цитомиксис - естественный процесс. У некоторых отдаленных гибридов который также может использоваться для передачи генов от донора виду-реципиенту. Китайскими учеными при скрещивании мягкой пшеницы с *Psathyrostachys huashanica* ($2n=14$) и рожью ($2n=14$) отмечен интенсивный межклеточный обмен хроматином. Цитомиксис был выявлен как на стадии профазы, так в тетрадах и приводил к появлению поли- и анеуплоидных материнских клеток. Считается, что в этом случае цитомиксис может приводить к трансгенезу и обмену генами в данной группе злаков [22].

5.9. Использование гаметоцидных генов.

Еще один способ индукции генетической нестабильности и интрогрессии чужеродных генов в геном мягкой пшеницы состоит в использовании некоторых видов и их отдельных хромосом, которые несут гаметоцидные гены. Когда такие гены находятся в гетеро - или

гемизиготном состоянии у пшеницы, то они обуславливают морщинистость семян, разрыв хромосом и хромосомные мутации т.е. вызывают гибридный дисгенезис. Хромосомы с такими генами обеспечивают преимущественную передачу гамет потомству, в которых они находятся. Клетки спороцитов без такой чужеродной хромосомы стерильны. Описан гаметоцидный ген *Gc1a*, который обуславливает дегенерацию эндосперма и вызывает хромосомные aberrации, и ген *Gc1b*, который вызывает развитие аномальных семян без зародышевых побегов. Гаметоцидные гены несут виды *Ae. triuncialis*, *Ae. caudata*, *Ae. longissima*, *Ae. sharonensis*, *Ae. speltoides* и некоторые другие виды *Aegilops* и *Agropyron*. Гибридный дисгенезис полезен для получения хромосомных разрывов, транслокаций и делеций и переноса генов без использования радиации и сложной цитологической техники.

Некоторые японские сорта пшеницы Norin 26, Norin 69, Akakomugi и другие имеют гены-супрессоры гаметоцидных генов (*Igc1*). Поэтому гибриды F1 между Norin 26 и дисомной дополненной линией Чайниз Спринг с парой хромосом 3С от *Ae. triuncialis*, несущей гаметоцидные гены - не имеют преимущественного наследования. Однако в потомстве гибридов F1 разрывы хромосом случаются с высокой частотой. Было предложено использовать гаметоцидные гены и их ингибиторы для переноса чужеродных генов в геном мягкой пшеницы, а также для создания ДДЛ пшеницы ($2n=44$) с чужеродными хромосомами, несущими эти гены, поскольку для некоторых видов с гаметоцидными генами получение ДДЛ было проблематично [35].

5.10. Использование физического мутагенеза (облучение семян, растений, гамет).

Облучение семян, растений и гамет достаточно эффективно и длительное время используется как физический мутагенный фактор для повышения изменчивости у культурных растений и для создания

мутантных форм с устойчивостью к грибным болезням и морфологическими изменениями, а также для преодоления нескрещиваемости видов и индукции гаплоидии [8, 9]

С развитием приемов выращивания растений в культуре *in vitro* метод облучения каллусов, пыльников в андрогенезе и зародышевых мешков в гиногенезе стал использоваться для усиления формообразовательного процесса в культуре ткани для получения гаплоидов, и как метод, облегчающий получение трансформантов.

5.11. Генетическая трансформация пшеницы.

Генетическая трансформация - еще одна возможность введения новых генов в геном культурных форм, дополняющая, но не заменяющая традиционных методов селекции. Трансформация успешно применяется на кукурузе, рисе, ячмене, пшенице. Технически введение генов доноров в геном культурного растения может осуществляться с использованием *Agrobacterium tumefaciens*. метода электропорации или метода бомбардировки частицами золота или вольфрама, несущих чужеродную ДНК.

Среди биотехнологических методов, способствующих получению растений, устойчивых к биотическим стрессам, перспективными считают трансгенез и соматическую гибридизацию [22].

6. Дифференциальное окрашивание.

В связи с тем что при использовании рутинной окраски идентификация хромосом многих сельскохозяйственных видов злаков затруднительна или даже невозможна [7], в течение многих лет большинство работ по цитогенетике растений проводилось на мейотических хромосомах. Морфологию и хромомерную организацию хромосом изучали на стадии пахитены, в дальнейшем более широкое распространение получил метод исследования хромосом в первой

метафазе редукционного деления. Так, в частности, анализ конъюгации хромосом в мейозе моносомных линий пшеницы сорта Чайниз Спринг позволил впервые провести идентификацию индивидуальных хромосом мягкой пшеницы.

Возможности изучения хромосом злаков резко расширилось с созданием методов дифференциального окрашивания. Современные методы дифференциального окрашивания появились в конце 60-х — начале 70-х годов. Принципиальная возможность получения дифференциальной окраски хромосом растений на примере одной из хромосом бобов; была продемонстрирована еще в основополагающей работе Касперсона и сотр. 1968 г. [27].

Разработка методов дифференциального окрашивания стимулировала проведение работ в области хромосомного анализа. Эти исследования можно условно разделить на два направления: одно из них, теоретическое, посвящено в основном изучению биохимического состава и молекулярной организации хромосом, в частности гетерохроматических районов, анализу природы дифференциального окрашивания, разработке новых методов окраски и др. Второе направление связано с применением методов дифференциального окрашивания к объектам, имеющим практическое значение.

Дифференциальное окрашивание (сегментирование) хромосом можно определить как применение специальных способов окрашивания, позволяющих получить различия в окраске по длине хромосом. Сущность метода сегментирования состоит в выявлении рисунка на хромосомах, в которых нет каких-либо очевидных структурных различий.

Способность к дифференциальному окрашиванию с одной стороны неотъемлемое свойство хромосомы эукариотов, а с другой стороны такое свойство, в котором отражается индивидуальность каждой хромосомы. Различают следующие основные методы дифференциального

окрашивания: окраска флюорохромами (Q-окраска) и окраска красителем Гимза (G-окраска, C-окраска).

Q-окраска — препараты хромосом без предварительной обработки окрашивают акрихином или акрихин ипритом производными акридина. При исследовании окрашенных хромосом с помощью флуоресцентного микроскопа по длине хромосомы выявляются сегменты разной степени флуоресцентного свечения. Локализация и степень свечения этих сегментов в индивидуальной хромосоме достаточно постоянна.

Из не флуоресцентных основных красителей для дифференциальной окраски используют красители Гимза, Лейшмана, Май-Грюнвальда, обязательными компонентами которых являются метиленовый синий, азуры и эозин.

G-окраска — препараты хромосом после предварительной обработки в щелочном растворе (или без нее) инкубируют в стандартном солевом растворе (2SSC) и затем окрашивают красителем Гимза в фосфатном буфере (pH=6,8). Другие варианты этой окраски включают предварительную обработку препаратов раствором мочевины или детергентов. Используются методы, включающие мягкую обработку протеазой с последующей окраской раствором Гимза. В этой процедуре чаще всего используют трипсин, однако, для такой обработки можно использовать и другие протеазы.

Результатом этой окраски является четкая дифференциация хромосом на темноокрашенные сегменты (G-положительные) и слабоокрашенные (G-отрицательные).

Рисунок окрашивания — т. е. число, размеры и порядок расположения плотно- и слабоокрашенных сегментов принципиально совпадает для Q- и G-окраски. Интенсивно флуоресцирующие участки в первом случае, соответствуют темноокрашенным участкам во втором.

R-окраска. Условия R-окраски хромосом красителем Гимза промежуточные между C- и G-методами. Метод состоит в

предварительной инкубации препаратов в фосфатном буфере (рН=6,5) в условиях контролируемой температуры (87 °С) в течение 10-12 мин. При слабой общей интенсивности окрашивания распределение окрашенных и неокрашенных сегментов обратно тому, что возникает при Q- и G-окрашивании. Режим термической обработки, рН инкубационной среды, концентрация ионов, продолжительность инкубации, возраст препарата при этом методе имеют большое значение.

Вариантом R-окраски является T-окраска. При этом варианте преимущественно окрашиваются теломерные сегменты хромосом, как правило, организованные гетерохроматином.

Окраска по Фельгену. После мягкой щелочной обработки с последующей длительной экспозицией в холодном солевом растворе, сегментация может быть выявлена с помощью реакции Фельгена.

В цитогенетических исследованиях растений наибольшее распространение получил **C-бендинг** с помощью которого происходит окрашивание гетерохроматических сегментов в индивидуальных хромосомах, что позволяет выявить специфический рисунок каждой хромосомы. Хотя при окрашивании проявляется достаточно широкий полиморфизм бендов на различных сортах, однако при строгом соблюдении методологии, с помощью C-бендинга, можно не только идентифицировать хромосомы и исходные родительские формы, но и определить хромосомные перестройки и интрогрессию чужеродного материала.

C-окраска. Более жесткая (по сравнению с G-окраской) щелочная обработка и длительная тепловая обработка (до 65 °С) в 2SSC перед окрашиванием их красителем Гимза сопровождается разрушением структур, лежащих в основе G-окраски. Способность к окраске сохраняют лишь плотноконденсированные районы структурного гетерохроматина (C-сегменты) локализованные, как правило, в прицентромерных районах.

Структурный гетерохроматин выявляемый этим методом имеет вид плотных интенсивноокрашающихся блоков или сегментов, отчетливо выявляющихся в более слабо окрашенных эухроматических районах хромосомы.

C-метод не выявляет гетерохроматизированный хроматин также находящийся в конденсированном состоянии в интерфазе. Эта важная особенность C-метода позволяет дифференцировать два типа позднореплицирующегося хроматина.

Специфичность распределения гетерохроматических сегментов в индивидуальных хромосомах, с одной стороны, и полиморфизм блоков по величине, с другой — характерные особенности гетерохроматина [16]. Закономерная локализация блоков определенной величины по длине хромосомных плеч создает предпосылки для идентификации отдельных хромосом и их фрагментов в нормальном и перестроенном кариотипах. Показано, что основные особенности рисунка дифференциального окрашивания хромосом видоспецифичны, наследуются и, следовательно, могут быть использованы для разработки видового кариотипа. Генетически сходные, или гомеологичные, хромосомы родственных видов или геномов имеют близкие рисунки распределения гетерохроматических сегментов [14].

Полиморфизм гетерохроматических районов — широко распространенное явление, типичное для большинства видов эукариотических организмов [16]. Он обуславливает внутривидовые различия по рисунку дифференциальной окраски, которые, в свою очередь, позволяют распознавать отдельные индивиды по особенностям кариотипа, строить на основе видового кариотипа идиограммы хромосом конкретной особи, линии, сорта и т. д. [2].

Сравнение распределения C-бэндов в различных полиморфных вариантах каждой из 21 пар индивидуальных хромосом *Triticum aestivum* позволило разделить ГХ блоки на три основные категории:

Постоянные неполиморфные блоки. С-бэнды, принадлежащие к этой группе, не варьируют по величине и присутствуют у всех образцов данного вида. К ним относятся все центромерные С-блоки; ГХ участки, расположенные в рационах ядрышковых организаторов; блоки, образующие комплексы околоцентромерного гетерохроматина хромосом В-генома; ряд интерстициальных С-бэндов хромосом А-, В- и D-геномов.

Постоянные С-блоки, полиморфные по размеру. Блоки этой группы, локализованные в прицентромерных, теломерных и интерстициальных участках хромосом, обнаружены в кариотипах всех исследованных образцов *T. aestivum*, но, в отличие от С-бэндов первой группы, они значительно варьируют по величине.

Непостоянные С-блоки. К ним относятся те интерстициальные и теломерные С-бэнды, которые варьируют по наличию/отсутствию и полиморфны по размеру [3].

Постоянные С-бэнды первой и второй групп служат основой для идентификации хромосом, а полиморфные блоки второй и третьей групп обуславливают индивидуальность кариотипа сорта, линии, образца и т. д. Исследования Созиновой Л. Ф., проведенные на сортах мягкой пшеницы Безостая 1 и Саратовская 29, показали, что рисунки дифференциального окрашивания хромосом являются постоянной характеристикой сорта. Они не изменяются при выращивании материала в отличающихся почвенно-климатических условиях и в семенах различных сроков репродукции (суперэлита и 4-я репродукция) [3].

В соответствии с основными принципами стандартизации хромосомных исследований, обобщенными в материалах Парижской конференции «*Standardization in Human Cytogenetics, Birth defects*» (1971), на идиограмме каждой хромосомы приведены все ГХ блоки, выявленные различными авторами в сортах мягкой пшеницы. Каждому блоку присвоен номер, соответствующий его положению на хромосомном плече. Плечи

некоторых хромосом разделены на районы, где в качестве «пограничных» («*landmark*») выбраны постоянные блоки 1-й группы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

1. Цели и задачи исследований

Целью данной работы являлось: цитогенетическое исследование сорта озимой пшеницы Звезда, полученного методом отдаленной гибридизации.

Задачами, поставленными в этом исследовании, было:

- б) определить число хромосом данного сорта;
- 7) определить геномный состав и идентифицировать хромосомы;
- 8) на основе полученных результатов, составить кариотип данного сорта.
- 9) дать характеристику мейотического деления сорта Звезда.

2. Материалы и методы исследований

Сорт озимой пшеницы Звезда.

2.1. Характеристика сорта Звезда

Звезда — первый из сортов озимой пшеницы, полученный в Московской сельскохозяйственной академии имени К. А. Тимирязева методом отдаленной гибридизации с использованием ступенчатых скрещиваний F_1 [*Triticum durum* (Харьковская 46) X *Agropyron glaucum*] X *T. aestivum* F1 (Мироновская 808 X Лютесценс 329). С 1992 года районирован в Московской области.

Разновидность *lutescens*.

Сорт пока не изучен генетически. Долю участия трех видов двух родов *Triticum* и *Agropiron* в становлении Звезды предстоит еще выяснить. Сорт заслуживает особого внимания специалистов не только как объект коммерческого использования, но и с теоретической точки зрения как донор генетического материала, источник многих хозяйственно ценных признаков.

По данным Кондратьева А.А. [10] сложная наследственная база Звезды заметно проявляется при ее возделывании. Этот сорт значительно отличается от других по биологии роста и развития, свойственной чаще всего диким злакам, и по морфологическим признакам. Кроме того, как показывают десятилетние наблюдения, он характеризуется некоторой генетической нестабильностью. Речь идет прежде всего о большей, чем обычно, частоте появления спонтанных мутантов, в том числе и стерильных форм, диплоидов и т. д. Это также свидетельствует о значительной интрогрессии в генотип мягкой пшеницы чужеродного генетического материала, способного вызывать разные мутации.

Сорт отличается высоким потенциалом продуктивности. В опытах и при государственном испытании на некоторых сортоучастках (в Киевской области, Литве и т. д.) зафиксирована урожайность зерна 8,5—8,7 т/га.

В 1985—1991 годах в конкурсном испытании в ТСХА новый сорт дал зерна в среднем по 5,38 т/га, а стандарты Мироновская 808 и Заря — соответственно 4,71 и 4,85 т/га. В отдельные годы разница в урожайности достигала 1,0—1,7 т/га.

Главное преимущество данного сорта перед стандартами — его высокая устойчивость к полеганию, что для переувлажненных районов часто имеет решающее значение. В годы проявления признака различие по устойчивости с другими сортами достигает 2 баллов и более. Этот ценный признак и явился основной причиной широкого распространения Звезды в хозяйствах.

По темпам роста и развития Звезда резко отличается от стандартов и очень близка к пырею. Весной долго не отрастает. Листья, как и у многих диких злаков, могут быть даже бурыми. Посевы ее в это время выглядят не столь привлекательно, как зеленеющие посевы других сортов, начинающих очень рано отрастать. Фаза кущения у нового сорта длится на неделю дольше, чем у стандартов. Формируется мощный стелющийся куст со множеством побегов (у Звезды подавлено апикальное доминирование).

После выхода в трубку куст становится прямостоячим, побеги постепенно выравниваются.

Колошение начинается на 4—5 суток позже, чем у стандартов, на такой же период задерживается и созревание.

Колосья у растения почти одинаковые по размеру. Колоски многоцветковые, что также возможно заимствовано от дикой родительской формы. При благоприятных условиях в центральной части колоса в каждом колоске завязывается до 6—8 зерновок, то есть на 35—40 % больше, чем у Зари и Мироновской 808. При такой озерненности масса 1000 семян, естественно, меньше, чем у стандартов, и составляет 35—37 г. В целом же колос весьма продуктивный, и масса зерна с него может достигать 3,5—4,0 г.

Таким образом, Звезда обладает более широким компенсационным механизмом, чем стандарты. Ей свойственны мощное весеннее кущение и повышенная озерненность колосков, что позволяет получать одинаковые урожаи зерна при разных нормах высева семян — от 3 до 6 млн шт/га. Обычно же наиболее урожайны посевы, формирующиеся при норме высева семян 3—4 млн шт/га.

2.2. Методика исследований

Используемый вариант С-бэндинга был разработан в лаборатории функциональной морфологии хромосом Института молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН Бадаевой и сотр. Метод обладает высокой разрешающей способностью, позволяет получать полные метафазные пластинки с хорошим разбросом хромосом, воспроизводим и пригоден для изучения растений различных таксономических групп.

2.2.1. Приготовление хромосомных препаратов

Проращивание семян. Семена замачивали в стакане водопроводной воды при комнатной температуре приблизительно на сутки, а затем

переносили в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу и оставляли в холодильнике. Для синхронизации клеточных делений улучшения прорастания семян использовали режим чередующихся температурных циклов: днем материал держали в холодильнике, а на ночь переносили в термостат на 24°C или же оставляли на столе при комнатной температуре. Использовали молодые проростки с корешками 1,5 - 2,5 см.

Предобработка корешков для накопления метафазных пластинок. Перед фиксацией семена вынимали из холодильника и оставляли при комнатной температуре на 16 часов. Работу с материалом начинали утром или в первой половине дня.

Семена или корешки обрабатывали 0,2%-ным водным раствором колхицина ("Sigma", кат. № С 9756) 2,5 часа после чего корешки обрезали и переносили в воду со льдом на 30 мин.

Фиксация. Корешки фиксировали 45%-ной уксусной кислотой 4 часа в холодильнике. Фиксатор сменяли через 15 мин. и через 1,5 часа с момента начала фиксации.

Отмывка. Кислоту отмывали шестью сменами холодной дистиллированной воды выдерживая по 10 минут в каждой смене. Во время первой отмывки воду сменяли 3 раза до исчезновения резкого запаха уксуса.

Насыщение и гидролиз. После отмывки корешки помещали в холодную 0,2 N HCl на 20 мин. для насыщения. Одновременно в водяной бане нагревали бюкс с соляной кислотой для гидролиза. Гидролиз проводили в 0,2 N HCl при 60°C 5 минут, после чего корешки быстро переносили в воду со льдом.

Отмывка и обработка ферментом. Кислоту отмывали дистиллированной водой 3 x 10 мин., кончики корешков (непрозрачную часть длиной 1,5-2 мм, соответствующую зоне деления) обрезали и складывали в пробирки с водным раствором целлюлозина ("Calbiochem", кат. № 219466). Для мацерации одного образца достаточно 150-200 мкл 0,2

- 0,3%-ного раствора целлюлозина (*активность фермента 10,000-12,400 у.е./г при pH=4*). Обработку проводили в термостате при 26°C.

Приготовление хромосомных препаратов. Корешки промывали 3-5-ю сменами холодной дистиллированной воды.

Затем корешок помещали на предметное стекло, осторожно подсушивали с помощью фильтровальной бумаги и заливали большим объемом 45%-ной уксусной кислоты. Через 1,5-2 мин. излишек кислоты удаляли, добавляли каплю свежей кислоты и корешок мацерировали лезвием бритвы 2-3 мин. до получения однородной суспензии. Препарат накрывали покровным стеклом 18 x 18 мм, подсушивали фильтровальной бумагой и раздавливали. Покровное стекло снимали после замораживания на сухом льду и ставили препараты в 95° этиловый спирт на ночь или дольше.

2.2.2. Процедура С-дифференциального окрашивания хромосом

Препараты сушили на воздухе от получаса до нескольких суток. Сухие препараты обрабатывали насыщенным раствором Ва(ОН)₂ 6 минут при комнатной температуре, споласкивали в 1N HCl 10-15 сек. и промывали струей проточной воды. Препараты подсушивали горячим воздухом, инкубировали в растворе 2 x SSC при 60° С в течение 1 часа, промывали в проточной воде не менее 15 минут и сушили. Окрашивание проводили 4%-ным раствором Гимза на 0,125M Tris-HCl буфере (pH=6,8) под контролем микроскопа. Время окрашивания считается достаточным, если все гетерохроматические блоки, включая центромерные и мелкие интеркалярные, хорошо видны, тело хромосомы отличается от фона и контрастирует с окраской блоков. Оптимальное время окрашивания составляет 15-30 минут. При более быстром окрашивании трудно контролировать время окраски каждого препарата, тогда как длительное окрашивание приводит к загрязнению препаратов.

Для окраски использовали краситель «Giemsa-Merck» (кат. № 9204). Раствор красителя тщательно смывали струей проточной воды и препарат сушили горячим воздухом. Сухие стекла споласкивали в мета- или пара-ксилоле, на препарат наносили каплю энтеллана ("Merck", кат. № 7960) и накрывали покровным стеклом 22 x 22 мм или 24 x 24 мм. Из-под покровного стекла осторожно удаляли пузырьки воздуха и препараты сушили на ровной горизонтальной поверхности в течение суток.

2.2.3. Состав буферных смесей для С-бэндинга

2x SSC (1 x SSC: 0,15M NaCl + 0,015M Na цитрат: 17,53 г NaCl и 8,82 г двухводного цитрата Na (или 10,74 г 5,5-водного цитрата Na) растворяют в 800 мл дистиллированной воды. С помощью разбавленной соляной кислоты pH раствора доводят до 7,0, затем добавляют дистиллированную воду до конечного объема 1 литр.

0,125 M Tris-HCl: 14,6 г Trizma-base ("Sigma", кат. № T-1503) растворяют в 800 мл дистиллированной воды. С помощью концентрированной HCl pH раствора доводят приблизительно до 6,9-7,0 (потребуется не менее 10 мл кислоты). Через несколько дней pH доводят до 6,8 разбавленной соляной кислотой.

2.2.4. Монохромное окрашивание красителем Гимза.

Приготовленные по вышеописанной методике постоянные препараты окрашивали 3%-ным раствором красителя Гимза в фосфатном буфере Соренса pH 6,8-7,0 в течение 20 мин.

2.2.5. Методика изучения микроспорогенеза в пыльниках на давленных препаратах.

Брались молодые колосья пшеницы до выколашивания (когда до выхода колоса из листового влагалища оставалось около 3 см) и фиксировались уксусным алкоголем в течение 12 часов. Затем материал промывали в 6 сменах дистиллированной воды с интервалом в 10 минут.

Пинцетом извлекались пыльники из цветков и помещались на предметное стекло в каплю ацетокармина. Затем пыльник дробили на мелкие кусочки, и накрывали покровным стеклом. Препарат подогревали на спиртовке.

После прокрашивания препараты анализировались на световом микроскопе.

3. Результаты

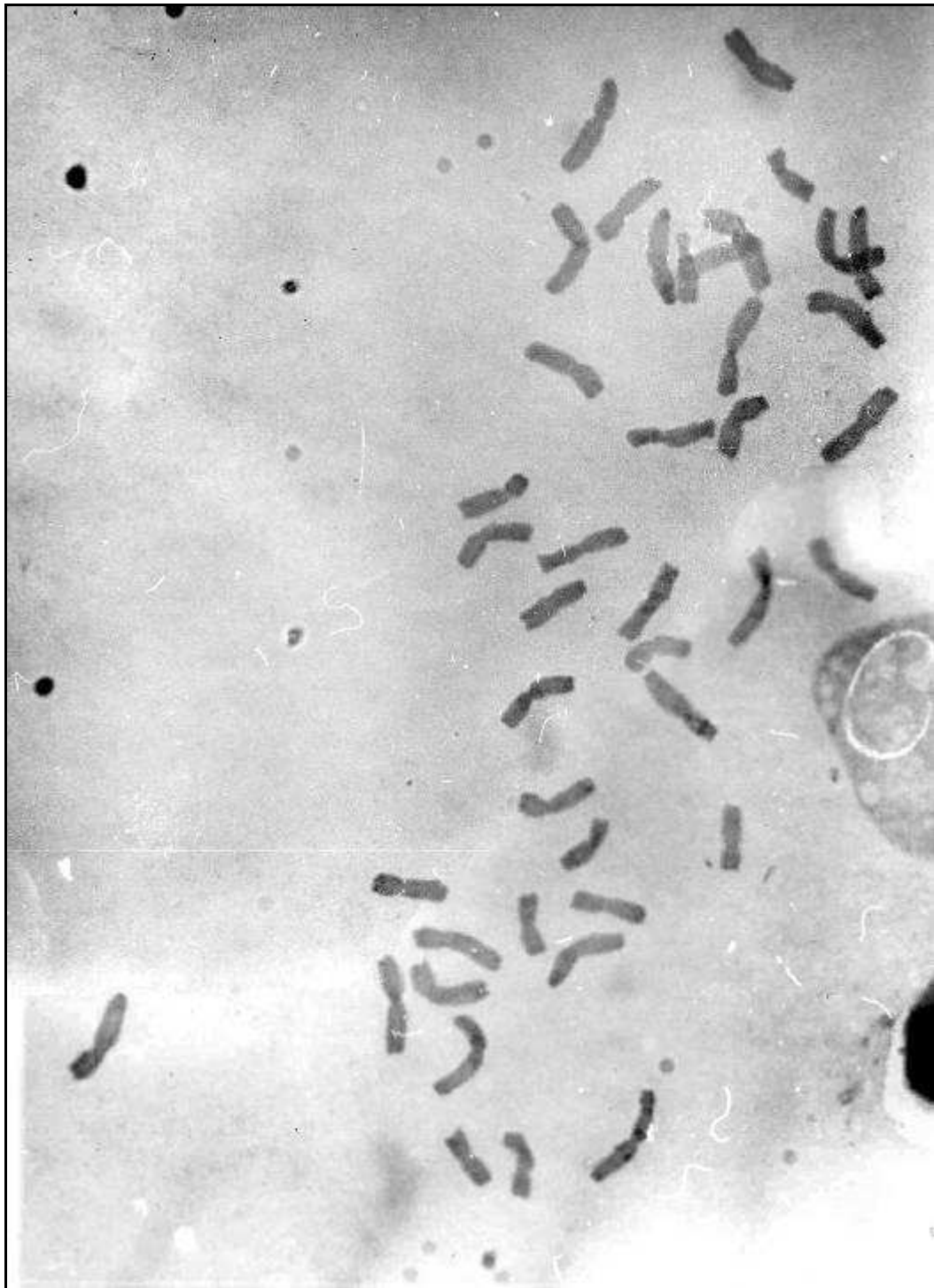
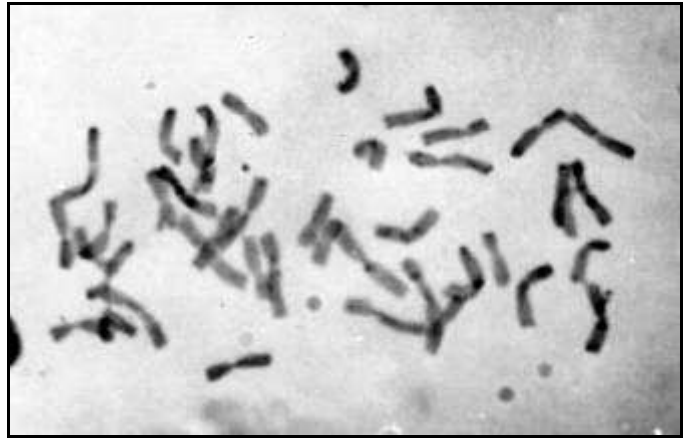
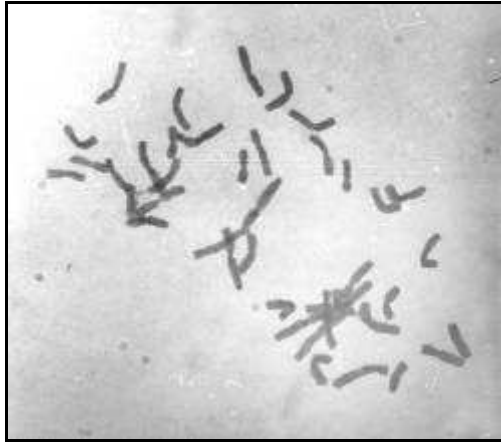
3.1 Монохромное окрашивание.

Сорт Звезда был получен методом отдаленной гибридизации. По биологическим и ботаническим признакам он относится к мягкой пшенице, однако наряду с признаками мягкой пшеницы выявлялись признаки свойственные другим видам.

Первым этапом наших исследований было определение числа хромосом. Для подсчета хромосом, нами было проведено монохромное окрашивание давленных препаратов меристем корешков сорта Звезда, результаты которого показали, что данный сорт, также как и другие сорта мягкой пшеницы, имеет гексаплоидный набор хромосом ($2n = 42$) (рис. 1).

Рис. 1. Монохромное окрашивание





3.2 Дифференциальное окрашивание.

Для установления геномного состава сорта Звезда, нами был использован метод дифференциального окрашивания хромосом.

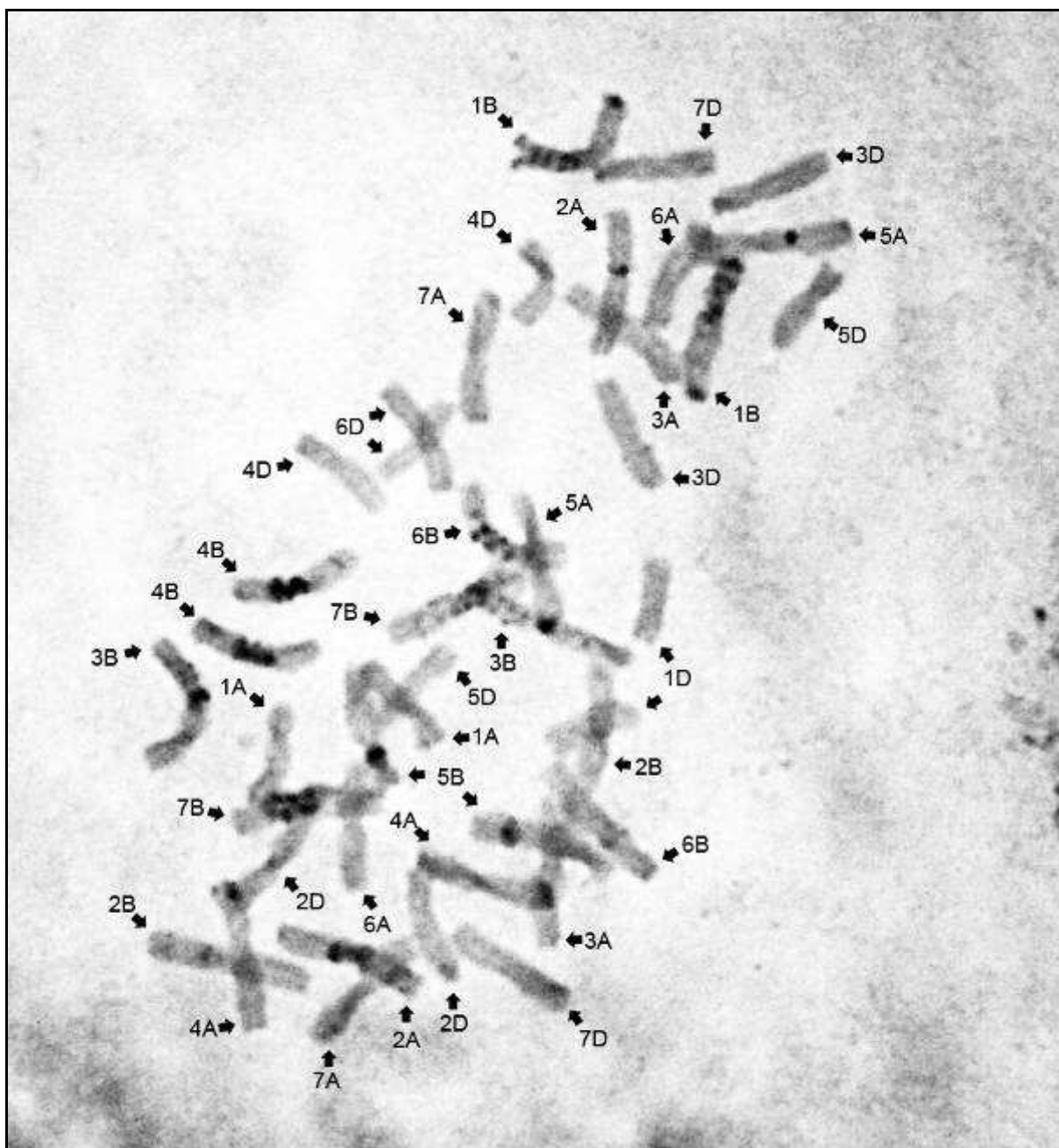


Рис. 2. Дифференциально окрашенная метафазная пластинка.

3.2.1. Идентификация хромосом

Нами было показано, что сорт Звезда обладает свойственными для мягкой пшеницы геномами А, В и D. Ниже приведена идентификация хромосом сорта Звезда.

А-геном

Хромосома 1А. Обнаружен С-бэнд в проксимальной части длинного плеча, являющийся для данной хромосомы маркерным.

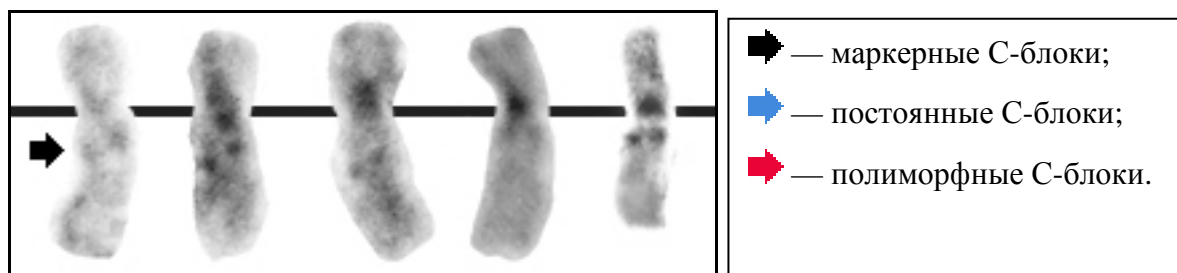


Рис. 3. Хромосома 1А.

Хромосома 2А. Крупный прицентромерный блок короткого плеча и С-бэнд в проксимальной трети длинного плеча, выявленные при окрашивании являются маркерными для этой хромосомы. По данной хромосоме наблюдается полиморфизм. Так проявляется полиморфный блок в проксимальной части короткого плеча на некоторых хромосомах, на других же он отсутствует.

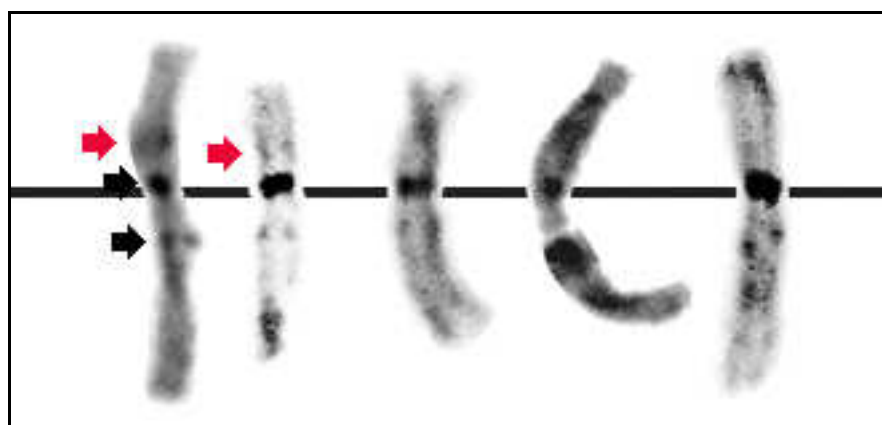


Рис. 4. Хромосома 2А.

Хромосома 3А. Маркерный ГХ-сегмент расположен в проксимальном участке короткого плеча. Полиморфизма по данной хромосоме не выявлено.

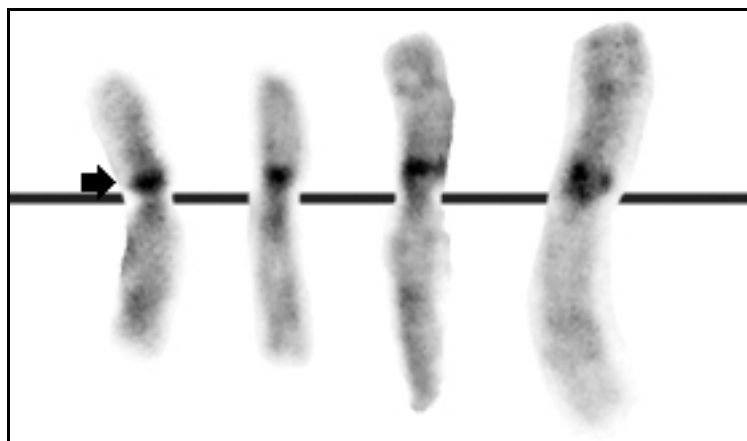


Рис. 5. Хромосома 3А .

Хромосома 4А не содержит ГХ блоков в коротком плече. Яркие дистальный и теломерный С-сегменты длинного плеча являются диагностическими для этой хромосомы. Также выявляется слабый проксимальный С-бэнд в длинной плече. Полиморфизма распределения С-бэндов нами не выявлено.

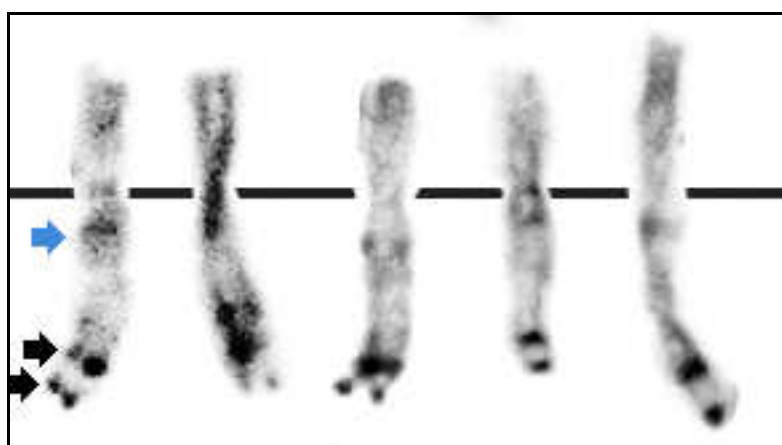


Рис. 6. Хромосома 4А (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 5А. при окрашивании были выявлены пара маркерных С-блоков расположенных в проксимальном участке длинного плеча. Помимо них, в некоторых хромосомах был обнаружен слабоокрашенный С-блок в прицентромерном участке короткого плеча. То есть по данной хромосоме так же наблюдается расщепление по рисунку дифференциального окрашивания.

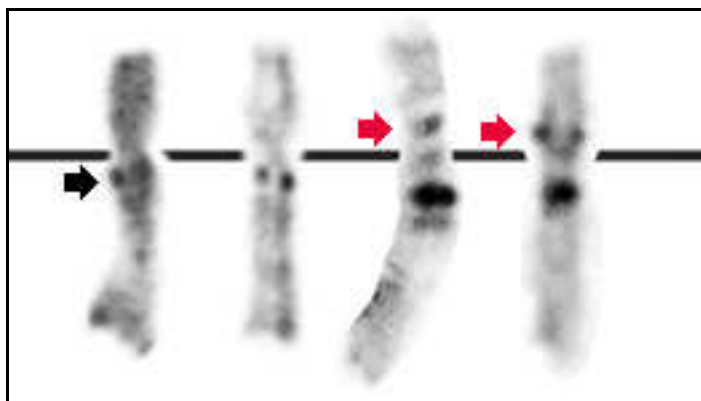


Рис. 7. Хромосома 5А (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 6А. Выявлены С-бэнды в проксимальной части и теломере длинного плеча. В теломере и дистальной части короткого плеча выявляются слабые С-сегменты.

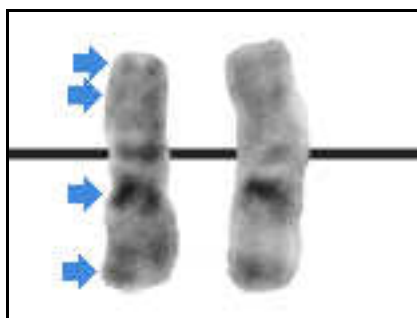


Рис. 8. Хромосома 6А (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 7А. Оба плеча сходны по длине и рисунку С-окрашивания. В теломерах и дистальных районах обоих плеч выявляются С-бэнды. Полиморфизм по данной хромосоме не обнаружен.

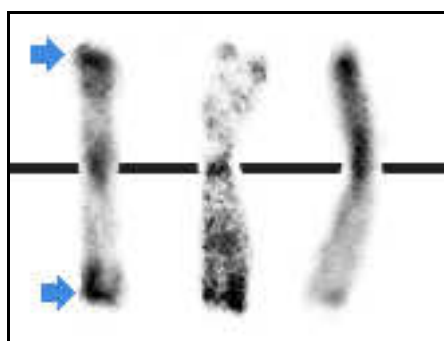


Рис. 9. Хромосома 7А (см. пояснения к рис.3).

В-геном.

Хромосома 1В спутничная, район придрышкового ГХ интенсивно окрашен. Комплекс прицентромерных ГХ блоков в обоих плечах,

крупный, бэнд в середине короткого плеча, а также теломерный ГХ сегмент и серия небольших интерстициальных блоков в середине длинного плеча выявленные при окрашивании являются маркерными для этой хромосомы. Помимо маркерных ГХ-сегментов выделяются окрашенные бенды в теломерном участке короткого плеча и середине спутника. Полиморфизм распределения ГХ-блоков по данной хромосоме нами не выявлен.

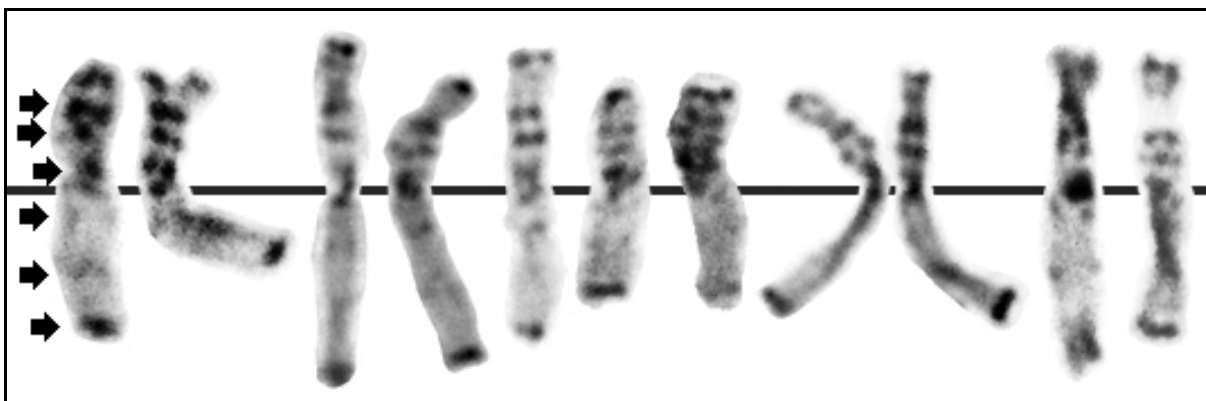


Рис. 10. Хромосома 1В (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 2В. При окрашивании были выявлены маркерные блоки: крупные С-блоки, локализованные в проксимальной трети короткого плеча, и серия из 2 пар более мелких С-бэндов в дистальной части короткого плеча. В середине длинного плеча выявляется пара достаточно крупных ГХ блоков. Полиморфизм распределения ГХ блоков по данной хромосоме нами не выявлен.



Рис. 11. Хромосома 2В (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 3В. Три пары крупных интеркалярных блоков в коротком плече и яркий прицентромерный ГХ сегмент в длинном плече четко выявленные при нашем окрашивании являются маркерными. Слабо прокрашенный ГХ блок выделяется в теломерном участке короткого плеча. При проведении С-бендинга нами обнаружен определенный полиморфизм в распределении ГХ сегментов на данной хромосоме. Так на одних хромосомах в середине длинного плеча выявляется достаточно крупный, хорошо прокрашенный блок, тогда как на других 3В хромосомах он отсутствует. Кроме того, существуют и отличия по наличию/отсутствию теломерного блока на длинном плече.

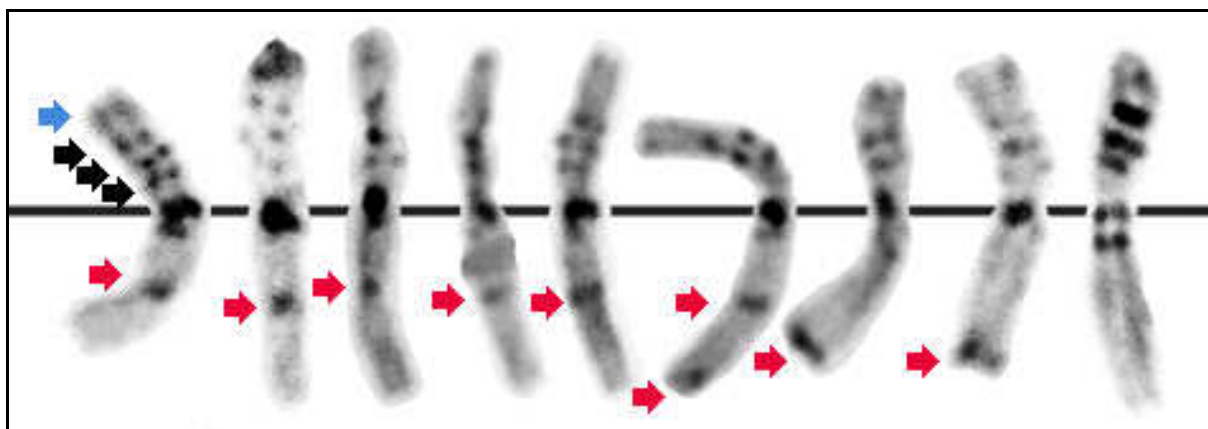


Рис. 12. Хромосома 3В (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 4В содержит большой комплекс ГХ сегментов в прицентромерных районах обоих плеч, теломерный С-бэнд в длинном плече. Данные блоки являются для этой хромосомы маркерными. Полиморфизм распределения ГХ блоков по данной хромосоме нами не выявлен.

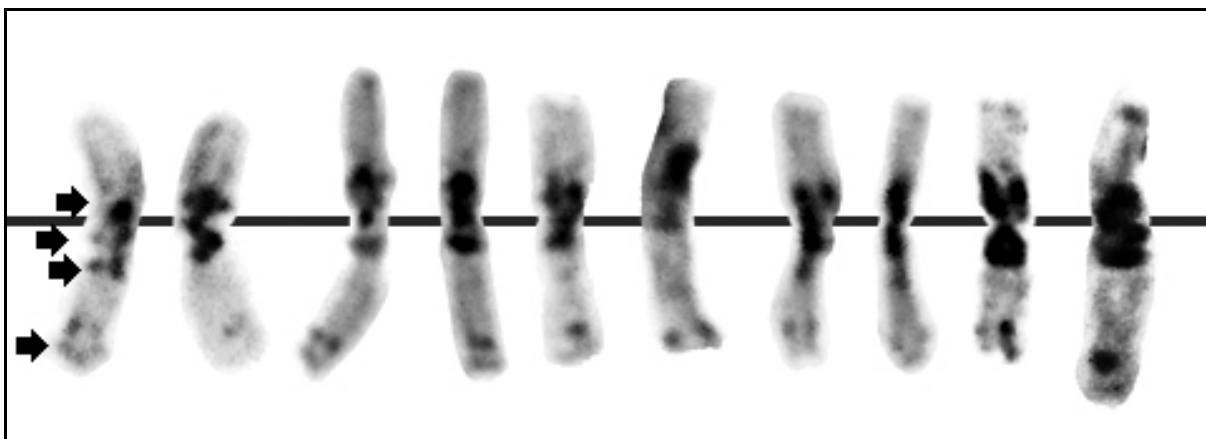


Рис 13. Хромосома 4В (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 5В характеризуется комплексом из 2 пар крупных прицентромерных ГХ блоков, небольшими теломерными и субтерминальными блоками в коротком плече. И серией 3 пар полиморфных интерстициальных блоков в середине длинного плеча. Данные блоки выявленные нами при окрашивании являются маркерными. Полиморфизм распределения ГХ блоков по данной хромосоме нами не выявлен.

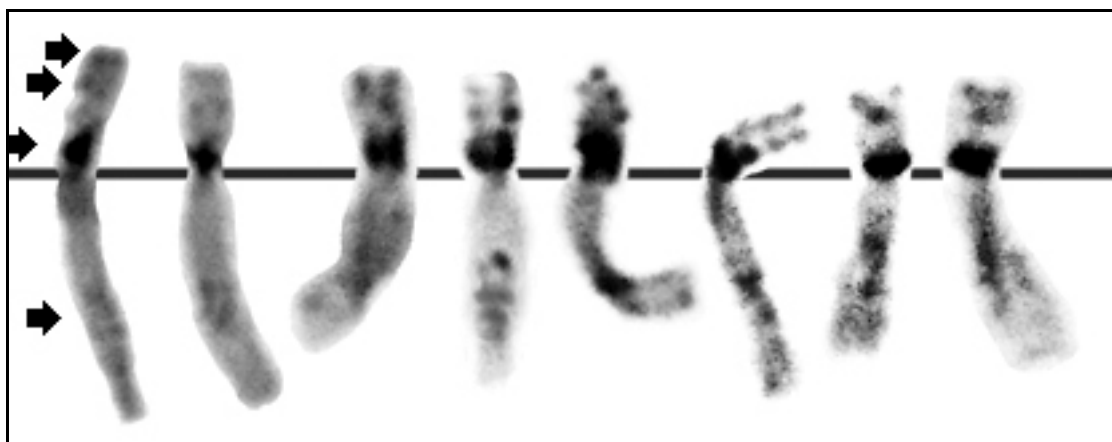


Рис. 14. Хромосома 5В (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 6В спутничная; большой комплекс прицентромерных С-сегментов, район приядрышкового ГХ и проксимальный блок в длинном плече выявленные при окрашивании являются диагностическими. Причем проксимальный блок в длинном плече очень крупный и ярко окрашенный, что не свойственно для 6В хромосомы мягкой пшеницы. По данной хромосоме идет расщепление по наличию/отсутствию теломерного блока в длинном плече. При этом следует обратить внимание что этот теломерный

блок ярко выражен. Это так же не свойственно гексаплоидной мягкой пшенице, а проявляется у тетраплоидных пшениц.

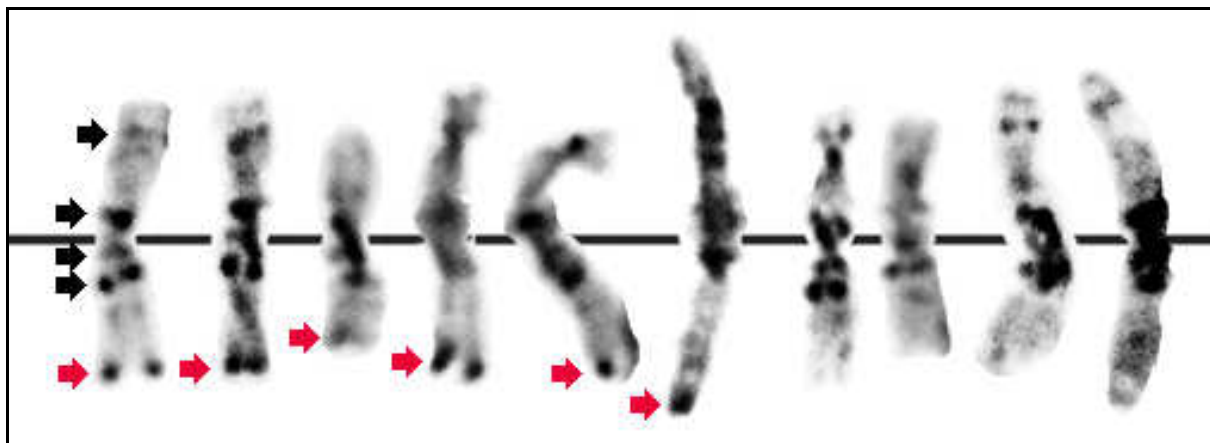


Рис. 15. Хромосома 6В (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 7В. Комплекс из 3-х пар крупных прицентромерных С-блоков и примыкающих к нему ярких интерстициальных бэндов выявленных нами при окрашивании являются маркерными. Кроме того, выявлены бэнды в середине и теломерном участке длинного плеча. Рисунок распределения ГХ блоков и столь большое количество ярко выделяющихся бэндов является весьма редким. Он свойственен лишь ограниченному количеству сортов и линий мягкой пшеницы. Полиморфизм распределения ГХ блоков по данной хромосоме нами не выявлен.

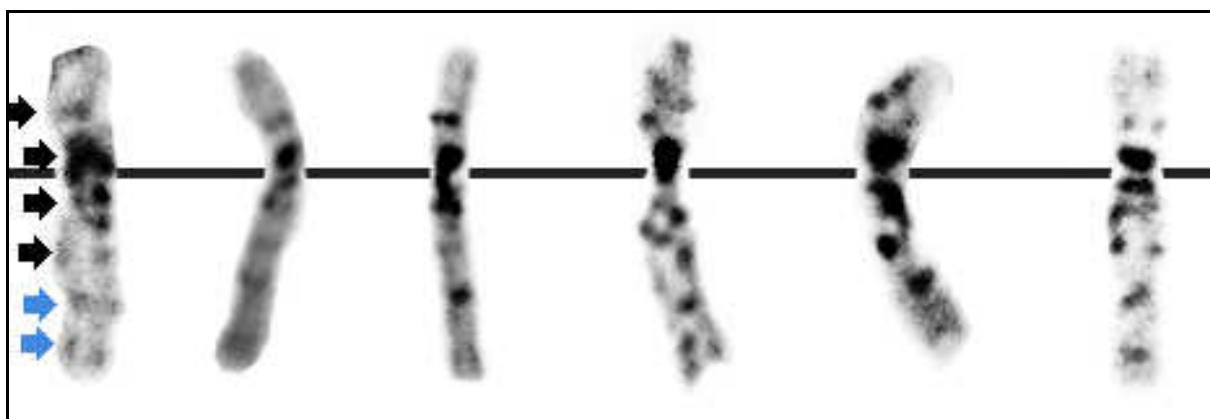


Рис. 16. Хромосома 7В (см. пояснения к рис.3).

D-геном.

Хромосома 1D содержит маркерный С-бэнд в дистальной части короткого плеча. Две пары более слабых блоков делят длинное плечо на три примерно равные части.

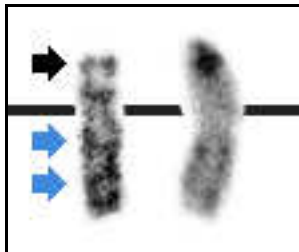


Рис. 17. Хромосома 1D (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 2D. Яркие проксимальный и теломерный С-блоки короткого плеча и слабо окрашенный проксимальный бэнд длинного плеча являются диагностическими. Так же прокрашивается теломерный ГХ длинного плеча.

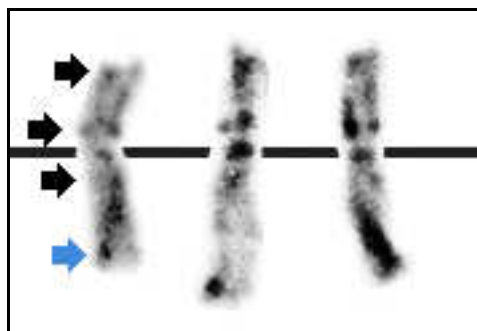


Рис. 18. Хромосома 2D (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 3D содержит две пары близко расположенных маркерных субтерминальных С-бэндов в коротком плече.

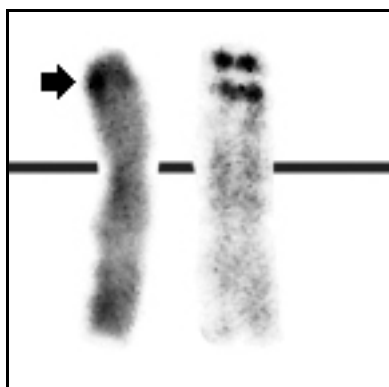


Рис. 19. Хромосома 3D (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 4D. Маркерный блок, выявленный при окрашивании, локализован примерно в середине длинного плеча. Полиморфный С-бэнд присутствует в проксимальном районе длинного плеча. Данный бэнд варьировался по наличию/отсутствию внутри нашего образца.

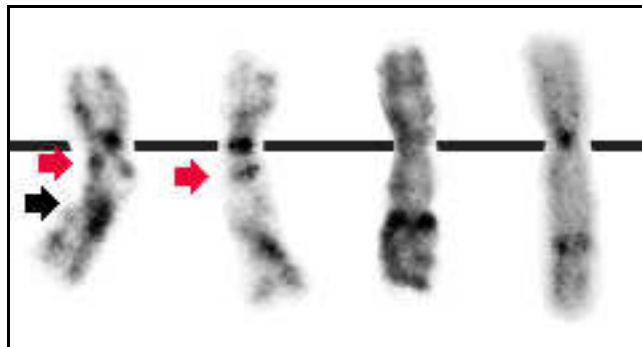


Рис. 20. Хромосома 4D (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 5D. Нами выявлены яркие теломерный и проксимальный С-блоки в коротком плече и бэнд в середине длинного плеча, являющиеся для данного сорта маркерными. По данной хромосоме внутри образца нами был обнаружен полиморфизм. Так субтерминальный бэнд короткого плеча проявлялся на одних хромосомах и отсутствовал на других хромосомах.

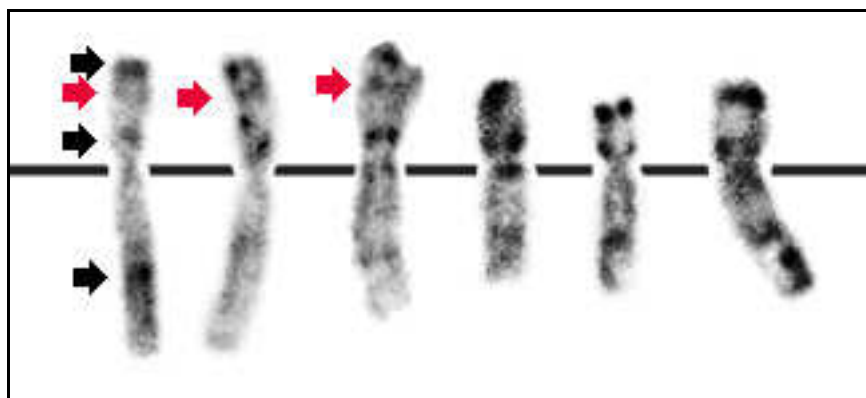


Рис. 21. Хромосома 5D (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 6D. В дистальной части короткого плеча, а также проксимальном участке и теломере длинного плеча присутствовали маркерные С-бэнды. Также обнаружен блок в дистальной части длинного плеча.

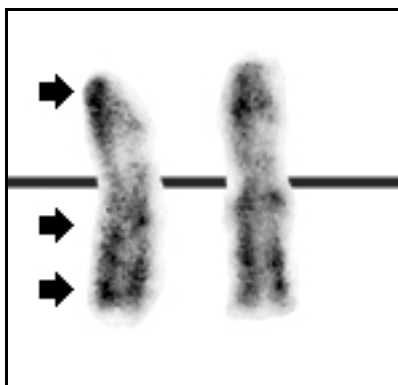


Рис. 22. Хромосома 6D (см. пояснения к рис.3).

Хромосома 7D. Теломерный и субтерминальный блоки длинного плеча, выявленные при окрашивании являются маркерными.

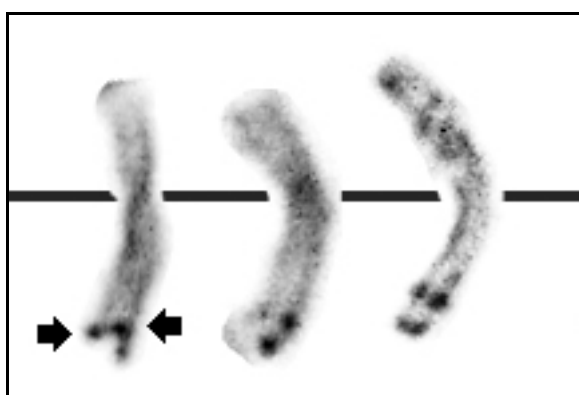


Рис. 23. Хромосома 7D (см. пояснения к рис.3).

3.2.2. Составление кариотипа

С использованием метода дифференциального окрашивания был составлен кариотип сорта Звезда.

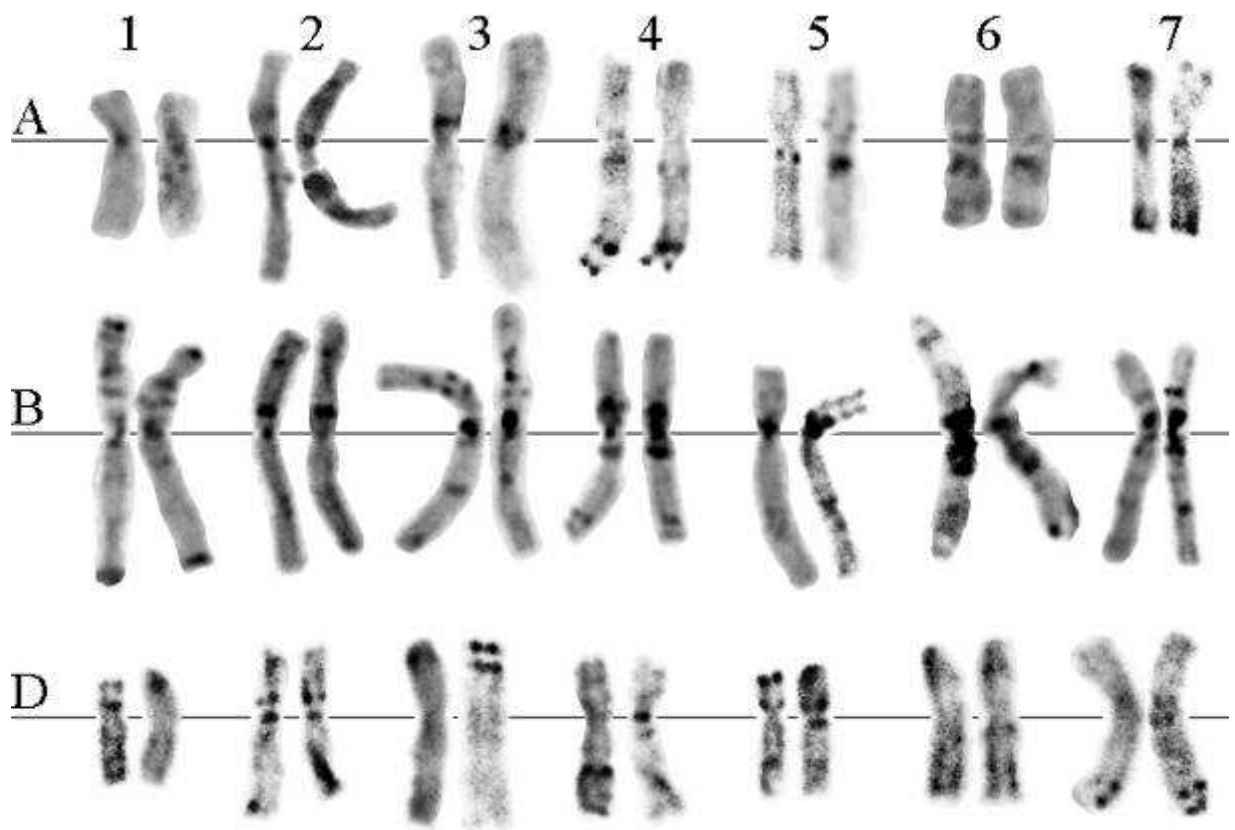


Рис. 24. Составленный нами кариотип сорта озимой пшеницы Звезда.

3.3 Характеристика нарушений мейоза.

Характеристика мейоза является одной из важнейших цитогенетических характеристик культуры. Ввиду того, что сорт Звезда является отдаленным гибридом, можно было ожидать определенных нарушений при прохождении фаз мейоза.

Так в части клеток метафазы I наблюдались биваленты лежащие вне веретена деления (рис. 25 а, в), преждевременно разошедшиеся биваленты (рис. 25 б), а также “голые” биваленты без оболочки (рис. 25 д).



а



б



в



д

Рис. 25. Различные нарушения в метафазе I.

В анафазе I можно было наблюдать образование мостов (рис. 26).



Рис. 26. Образование мостов в анафазе I.

В метафазе II мейоза можно было наблюдать асинхронность деления в пределах одной материнской клетки пыльцы: в одной клетке хромосомы находятся на стадии М II, а во второй Т II или А II (рис. 27).

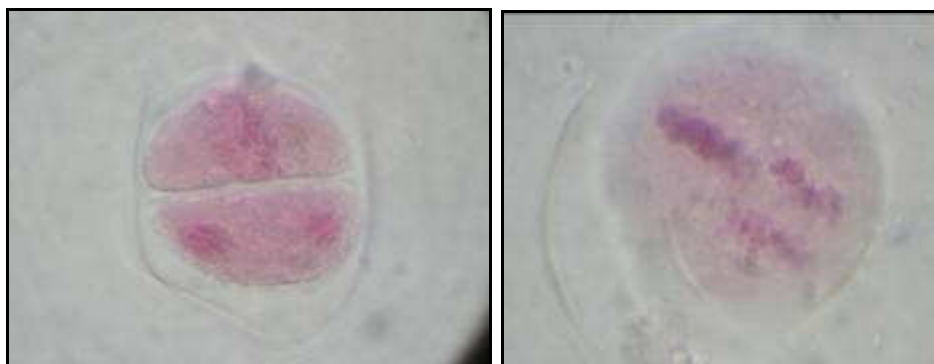


Рис. 27. Асинхронность деления в пределах одной материнской клетки.

ВЫВОДЫ

1) Сорт Звезда является гексаплоидной пшеницей и имеет диплоидный набор хромосом $2n = 42$.

2) Сорт Звезда характеризуется некоторой нестабильностью мейоза, что характерно для отдаленных гибридов и проявляется в нарушениях первого и второго деления мейоза.

3) Геномный состав, изученный методом дифференциального окрашивания, представляет собой сочетание хромосом геномов А, В и D. Хромосом других геномов не обнаружено.

4) Сорт Звезда характеризуется определенным полиморфизмом по структуре хромосом 3В, 6В, 2А, 5А, 5D, 4D, что проявляется в наличии/отсутствии определенных сегментов гетерохроматина.

5) Наличие теломерного бенда длинного плеча 6В хромосомы, присущего хромосоме 6В твердой пшеницы, свидетельствует о наличии интрогрессии генетического материала твердой пшеницы в сорт Звезда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Терновская Т.К.; Антонюк М.З. Гены биохимических признаков как маркеры чужеродного генетического материала в геноме пшеницы // Цитология и генетика, 1996; Т.30, N 3, - С. 71-85.
2. Бадаева Е. Д., Бадаев Н. С., Созинова Л. Ф., Турбин Н. В. Метод дифференциального окрашивания для создания «хромосомного паспорта» хлебных злаков // Сельскохозяйственная биология, №1, 1989.
3. Бадаева Е.Д. Эволюция геномов пшеницы: молекулярно-цитогенетическое исследование: Дис. докт. биол. наук. М. 2000, 480 с.
4. Банникова В.П. Цитоэмбриологическая и межвидовая несовместимость у растений. Киев:Наук. Думка, 1975. С.130-137.
5. Губанов Я. В., Иванов Н. Н. Озимая пшеница. М.: 1988. 303 с.
6. Дорофеев В. Ф., Удачин Р. А., Семенова Л. В., Новикова М. В., Градчанинова О. Д., Шитова И. П., Мережко А. Ф., Филатенко А. А. Пшеницы мира. Л.: ВО «Агропромиздат». Ленингр. отд-ние, 1987.-560 с.
7. Зурабишвили Т. Г., Иорданский А. Б., Бадаев Н. С. // Докл. АН СССР. 1974. Т. 218. № 1. С. 207.
8. Исмаилов Х.А.; Имамалиева А.Р. Использование радиации для получения мутантов пшеницы, устойчивых к грибным заболеваниям // Тр. Института генетики и селекции - АН АзССР, 1985; Т. 10, - с. 76-80.
9. Казанжи В.Г.; Литовченко Б.К.; Ткачук М.Н. Влияние гамма-излучений на рекомбиногенез у озимой пшеницы // Генетические основы селекции с.-х. культур в Молдавии. Кишинев, 1986, - с. 59-62.
10. Кондратьева Н.Н., Кондратьев А.А. Озимая пшеница Звезда // Журн. «Селекция и семеноводство». Выпуск №1, 1993 г., М., «Колос», 1993. С. 37-40.
11. Лобашев М.Е. Генетика. Л. Изд-во Ленинградского университета, 1967 751 с.

12. Махалин М. А. Межродовая гибридизация зерновых колосовых культур. М. «Наука», 1992. 239 с.
13. Носатовский А. И. Пшеница М.: Колос, 1965.
14. Муравенко О. В., Бадаев Н. С., Бадаева Е. Д. И др. Идентификация хромосом ячменя в соответствии с генетической номенклатурой хромосом пшеницы. ДАН СССР , 1086, 288, 3: 723-727.
15. Поддубная-Арнольди В.А. Эмбриология некоторых покрытосеменных растений. М.: Изд-во АН СССР, 1960. 420 с.
16. Прокофьева-Бельговская А. А. Гетерохроматические районы хромосом. М., 1986, 213-247.
17. Семенов В.И. Основные направления исследований по отдаленной гибридизации // Бюл.Гл.ботан.сада, 1995; Вып.171, - С. 38-48
18. Тимофеев В.Б. Отдаленная гибридизация в селекции тритикале и пшеницы: Дис. д-ра с.-х.наук в форме науч.докл.; НИИСХ центр.р-нов Нечернозем.зоны - Немчиновка,Моск.обл., 1995, - 48 с.
19. Худяк М. И., Банникова В. П. Цитоэмбриологические основы несовместимости при отдаленной гибридизации покрытосеменных растений // Цитология и генетика. 1968. Т. 2, №2, с. 17-23.
20. Цицин Н. В. Пути создания новых видов и форм растений // Генетика и селекция отдаленных гибридов. М.: Наука, 1976. с. 5-18.
21. Черницкая Н.В. Появление цитологических аномалий при создании замещенных линий мягкой пшеницы // Рекомбинац. селекция растений в Сибири. Новосибирск, 1989, - с. 63-69.
22. Ячевская Г. Л., Наумов А. А. Использование метода отдаленной гибридизации в селекции пшеницы. М.,1990 69с.
23. Ячевская Г.Л. Эффективность выделения растений с моно- и дисомными дополненными хромосомами *Agropiron intermedium* Host ($2n=42$) в скрещиваниях НППА ($2n=56$) X пшеница // Тез. докл. Всесоюзного совещания «Роль отдаленной гибридизации в эволюции и селекции пшеницы». Тбилиси, 16-20 июня 1985 г. 1985. С. 63-64.

24. Baum M.; Lagudah E.S.; Appels R. Wide crosses in cereals // *Ann.Rev.Plant.Physiol.Plant molec.Biol.* -Palo Alto,Calif., 1992; Vol.43, - P. 117-143.
25. Bernard M.; Bernard S. Meiotic pairing in hybrids between tetraploid Triticale and related species: new elements concerning the chromosome constitution of tetraploid Triticale // *Theoret. appl. Genet*, 1985; T. 70. N 4, - p. 390-399
26. Berzonsky W.A.; Francki M.G. Biochemical, molecular, and cytogenetic technologies for characterizing 1RS in wheat: A review // *Euphytica*, 1999; Vol.108,N 1, - P. 1-19.
27. Caspersson T., Farber S., Foley G. E. et al. // *Exptl Cell Res.* 1968. V. 49. №2. P. 219.
28. Carver B.F.; Rayburn A.L. Comparison of related wheat stocks possessing 1B or 1RS.1BL chromosomes: agronomic performance // *Crop Sc*, 1994; Vol.34,N 6, - P. 1505-1510.
29. Gupta P.K.; Fedak G. Variation in induction of homoeologous chromosome pairing in 6x *Aegilops crassa* by genomes of six different species of *Sesale* // *Canad. J. Genet. Cytol*, 1985; T. 27. N 5, - p. 531-537.
30. Islam A. K. et. al Isolation and characterization of euplasmic wheat barley chromosome addition lines // *Heredity* 1981. Vol. 46 .№ 2 P. 161-174.
31. Feldman M., Sears E.R. The wild gene resources of wheat // *Scient. Amer.* —1981, N.I.—P. 98—108.
32. Koebner R.M.D.; Shepherd K.W. Controlled introgression to wheat of genes from rye chromosome arm 1RS by induction of allosyndesis. 1. Isolation of recombinants // *Theoret. appl. Genet*, 1986; T. 73. N 2, - p. 197-208.
33. Liu Fang; Sun Genlou; Yen Chi; Yang Junliang Study of electrophoresis of isozymes of *Triticum aestivum*, *Psathyrostachys huashanica* and their hybrid F1 // *Acta agron.sinica*, 1992; Vol.18,N 3, - P. 169-175.
34. Sears E. R. Genetic control of chromosome pairing in wheat // *Annu Rev Genet.* 1976, 10 p. 31-51.

35. Tsujimoto H.; Noda K. Chromosome breakage in wheat induced by the gametocidal gene of *Aegilops triuncialis* L.: Its utilization for wheat genetics and breeding // Proc. /7th Intern. wheat genet. symp. Cambridge, 1988; T. 1, - p. 455-460.

36. Wang X. The potential for improving the primary distant hybrids of common wheat by anther culture // Genetic manipulation in plant breeding, 1986, - p. 211-213.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	2
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	4
1. Общая характеристика и систематика рода <i>Triticum</i> (L.)	4
2. Озимая мягкая пшеница	4
2.1. Ботаническая характеристика.....	7
2.2. Биологические особенности озимой пшеницы.....	8
2.3. Происхождение мягкой пшеницы.....	11
3. Отдаленная гибридизация пшеницы.....	12
4. Несовместимость при отдаленной гибридизации.	13
5. Интрогрессии чужеродного генетического материала в геном мягкой пшеницы.....	15
5.1. Использование генетической системы контроля конъюгации.	16
5.2. Использование генетических мостиков.....	17
5.3. Виды-супрессоры гомологичной конъюгации.	17
5.4. Синтез амфидиплоидов.	19
5.5. Создание форм мягкой пшеницы с чужеродными дополнениями.	20
5.6. Выделение замещенных форм мягкой пшеницы.....	22
5.7. Использование соматоклональной изменчивости.....	24
5.8. Явление цитомиксиса.	24
5.9. Использование гаметоцидных генов.....	24
5.10. Использование физического мутагенеза (облучение семян, растений, гамет).....	25
5.11. Генетическая трансформация пшеницы.	26
6. Дифференциальное окрашивание.....	26
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	33
1. Цели и задачи исследований.....	33
2. Материалы и методы исследований.....	33

2.1. Характеристика сорта Звезда.....	33
2.2. Методика исследований.....	35
2.2.4. Монохромное окрашивание красителем Гимза.....	38
2.2.5. Методика изучения микроспорогенеза в пыльниках на давленных препаратах.....	38
3. Результаты.....	39
3.1 Монохромное окрашивание.....	39
3.2 Дифференциальное окрашивание.....	41
3.3 Характеристика нарушений мейоза.....	52
ВЫВОДЫ.....	55
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	56
СОДЕРЖАНИЕ.....	60