

**Селекция пшеницы: генетические основы и *in vitro* технологии**

УДК 633.11:631.522/.524:576.3

doi: 10.15389/agrobiology.2014.3.77rus

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ СИНТЕТИЧЕСКОЙ ПШЕНИЦЫ ИЗ НАЦИОНАЛЬНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЗЛАКОВ США (NATIONAL SMALL GRAIN COLLECTION OF USDA-ARS) В УСЛОВИЯХ НЕЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЫ РОССИИ\*****И.Ф. ЛАПЧКИНА, И.В. ИОРДАНСКАЯ, Г.Л. ЯЧЕВСКАЯ,  
АДХАМ АЛЬ ЛАББАН**

Сформированная в соответствии с программой СИММУТ (International Maize and Wheat Improvement Center — Международный центр по улучшению кукурузы и пшеницы) коллекция синтетической пшеницы («синтетиков») нашла широкое применение в селекционных программах многих стран, так как образцы легко скрещиваются с сортами местной селекции, что значительно расширяет генетический потенциал гибридов. Эта коллекция «синтетиков» ранее никогда не испытывалась в регионах России по устойчивости к болезням и не использовалась в селекционных программах. Предметом нашего исследования стала коллекция из 400 образцов синтетической пшеницы, полученная из Национальной коллекции злаков США (штат Айдахо) в 2009 году для испытания ее в условиях Нечерноземной зоны на инфекционных фонах бурой ржавчины и мучнистой росы. В результате 2-летних исследований были выделены продуктивные образцы с устойчивостью к бурой ржавчине, мучнистой росе и с групповой устойчивостью. В то же время реакция на проникновение возбудителя бурой ржавчины оказалась гетерогенной, отмечалось также расщепление по морфологическим признакам колоса, листа, стебля. Для выяснения причин нестабильности у 71 образца из коллекции «синтетиков» изучен характер конъюгации хромосом в мейозе и подсчитан мейотический индекс. Установлено, что только 63 % образцов были цитогенетически стабильными. У остальных наблюдали варьирование числа хромосом у растений от  $2n = 40$  до  $2n = 43$ , отмечали нарушения в метафазе I мейоза (выявлены униваленты и мультиваленты), и такие растения, как правило, имели пониженный мейотический индекс. Сделано заключение, что в коллекции продолжается формообразовательный процесс, в основе которого лежит появление анеуплоидных растений. Этим объясняется наблюдаемое расщепление внутри образцов по морфологическим признакам и устойчивости к болезням. Для дальнейших генетических и селекционно-генетических исследований выделена группа цитогенетически стабильных форм, сочетающих устойчивость к болезням с крупнозерностью (масса 1000 зерен до 56 г) и высокой продуктивностью колоса (до 2,5 г).

Ключевые слова: синтетические гексаплоидные пшеницы, коллекция, мейоз.

Важным источником расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы служит привлечение ее дикорастущих сородичей, получение межвидовых и межродовых гибридов и вовлечение этих гибридов в дальнейшее скрещивание. У истоков этого направления стояли Н. Kihara, McFadden и E.R. Sears (1-3), а в нашей стране — Н.В. Цицин и Г.Д. Лапченко (4, 5). Однако в этом случае решение проблемы усложняется тем, что наряду с нужными признаками гибридному потомству передается множество других нежелательных свойств, характерных для диких видов (6). В 1990-е годы в Канзасском университете и в Мексике в Международном центре по улучшению кукурузы и пшеницы (СИММУТ — International Maize and Wheat Improvement Center) (7, 8) были разработаны программы создания синтезированных гексаплоидных (амфидиплоидных) форм пшеницы («синтетиков»). По программе, предложенной СИММУТ, большинство «синтетиков» получено на основе скрещивания современной пшеницы *durum* (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) с *Aegilops tauschii* ( $2n = 14$ ) и последующего удвоения числа хромосом, и лишь небольшое число «синтетиков» создано с участием *T. dicoccoides* и *T. dicoccut*.

Эти «синтетики» нашли широкое применение в селекционных про-

\* Работа выполнена при поддержке МНТЦ, проект 3352.

граммах многих стран (9-12), так как легко скрещиваются с сортами местной селекции, что значительно расширяет генетический потенциал создаваемых гибридов, в том числе за счет передачи новых генов. Синтезированные пшеницы могут быть использованы в самых разных направлениях селекции: в увеличении показателей по компонентам урожая, устойчивости к биотическим и абиотическим факторам, в повышении качества зерна. Первые коммерческие сорта Chunmai 38, Chunmai 42, Chunmai 43, Chunmai 47 с использованием «синтетиков» получены в Китае (10).

Коллекция «синтетиков» никогда не испытывалась в регионах России по устойчивости к болезням и не использовалась в отечественных селекционных программах. Предметом нашего комплексного исследования стали 400 образцов синтетической пшеницы, полученных из Национальной коллекции злаков США (штат Айдахо) в 2009 году для изучения в условиях Нечерноземной зоны на инфекционных фонах бурой ржавчины и мучнистой росы. Происхождение образцов коллекции описано подробно ([http://www.ars-grin.gov/npgs/acc/acc\\_queries](http://www.ars-grin.gov/npgs/acc/acc_queries)).

В результате 2-летних исследований были выделены продуктивные образцы с устойчивостью к бурой ржавчине, мучнистой росе и групповой устойчивостью. У некоторых мы идентифицировали гены устойчивости к бурой ржавчине с использованием методов фитопатологического тестирования и молекулярных маркеров (13). Установлено также повышенное содержание белка, клейковины и микроэлементов в зерне по сравнению с аналогичными показателями у стандартных сортов яровой мягкой пшеницы (14). Иными словами, образцы синтетической пшеницы действительно могут быть новыми источниками признаков для улучшения мягкой пшеницы в Нечерноземной зоне. Однако уже в первый год испытания коллекции была обнаружена неоднородность растений у некоторых образцов. Отмечали расщепление по морфологическим признакам колоса, листа, стебля. Наблюдали также гетерогенную реакцию на проникновение бурой ржавчины (значения от 0-1 до 3-4) у растений одного образца. Для генетических исследований, которые предполагают установление числа генов, детерминирующих устойчивость к бурой ржавчине, и их идентификацию, необходимы генетически стабильные линии.

Появились сведения, что некоторые синтетические пшеницы имеют такой же высокий уровень нарушений в мейозе, как и тритикале (15).

Для выяснения причин нестабильности образцов изучаемой коллекции была поставлена задача по проверке поведения хромосом в мейозе и установлению мейотического индекса как конечного показателя стабильности генотипа.

*Методика.* Изучили 71 образец синтетической пшеницы из 400, полученных из NSGC USDA-ARS Национальной коллекции злаков США (штат Айдахо). Анализ мейоза проводили на пяти растениях каждого из образцов на временных давленных ацетокарминовых препаратах по общепринятой методике (16). Просматривали примерно по 25 клеток с каждого растения, изучали процесс спаривания хромосом в метафазе I и определяли мейотический индекс (% нормально сформировавшихся тетрад).

Степень поражения мучнистой росой и бурой ржавчиной выражали в процентах, тип реакции на проникновение бурой ржавчины определяли по шкале E.V. Mains и H.S. Jackson (17). Комплекс хозяйственно ценных признаков (высота растения, число суток до колошения, масса зерна с главного колоса, масса 1000 зерен) изучали в течение 2009-2010 годов с контрастными погодными условиями в полевых опытах (Московская обл.)

**Число хромосом ( $2n$ ), тип конъюгации в метафазе I мейоза и мейотический индекс (MI, %) у изученных образцов синтетической пшеницы из коллекции NSGC-USDA-ARS (США)**

Образец	Число растений, шт.	Метафаза				Тетрады			Характеристика образца
		число метафаз I	$2n$	тип конъюгации	доля клеток с нарушениями, %	число тетрад, шт.		доля нормальных тетрад (MI, %)	
PI 613280	5	74	42	$21^{II} \div 20^{II} + 2^I \div 19^{II} + 4^I$	14,9	560	32	94,6	Генотип стабилен
PI 613310	6	126	42	$21^{II} \div 20^{II} + 2^I \div 19^{II} + 4^I$	17,5	735	51	93,5	Генотип стабилен
PI 648580	2	13	41	$20^{II} + 1^I \div 19^{II} + 3^I$	100	218	105	67,4	Образец нестабилен по $2n$ и характеру конъюгации в мейозе и имеет низкий MI
	1	6	43	$21^{II} + 1^I \div 20^{II} + 3^I$	100	64	52	55,1	
	2	28	42	$21^{II} \div 20^{II} + 2^I$	53,5	149	69	68,3	
PI 648571	1	8	40	$19^{II} + 2^I \div 18^{II} + 4^I$	11,4	5	100	4,0	Образец нестабилен по $2n$ и характеру конъюгации в мейозе и имеет низкий MI
	4	62	42	$20^{II} + 2^I \div 18^{II} + 6^I$	88,2	137	234	36,9	Образец нестабилен по $2n$ , но растения с $2n = 42$ стабильны
PI 648660	1	5	41	$20^{II} + 1^I$	100	60	28	68,2	Образец нестабилен по $2n$ , но растения с $2n = 42$ стабильны
	5	77	42	$21^{II}$	15,5	613	34	94,7	Образец нестабилен по $2n$ , но растения с $2n = 42$ стабильны
PI 648827	1	8	41	$20^{II} + 1^I$	100	75	40	65,2	Образец имеет низкий MI
	4	33	42	$21^{II} \div 20^{II} + 2^I$	9,1	386	37	91,2	Образец стабилен по $2n$ , но имеет нарушения в мейозе и пониженный MI
PI 648489	5	45	42	$21^{II} \div 20^{II} + 2^I$	35,5	481	122	79,8	
PI 648756	5	74	42	$21^{II} \div 19^{II} + 4^I$	55,4	274	206	57,1	

при сравнении со стандартом (сорта мягкой пшеницы Родина и Лада).

Расщепление по опушению колоса, остистости, наличию/отсутствию воска на колосе учитывали визуально в полевых условиях на вегетирующих растениях.

Достоверность различий со стандартным сортом оценивали по НСР<sub>05</sub>, которую рассчитывали по методике, изложенной Б.А. Доспеховым (18), с использованием программы Microsoft Excel.

*Результаты.* Полученные данные показали, что только 45 образцов из 71 были цитологически стабильны. Остальные линии расщеплялись по числу хромосом ( $2n$ ), имели нарушения в мейозе и характеризовались различной плотностью конъюгации хромосом. Это дало возможность все изученные образцы разделить на четыре условные группы, наиболее типичные представители которых приведены в таблице.

У растений I группы была установлена нестабильность числа хромосом ( $2n$ ) и нарушение процесса мейоза (формирование повышенного числа открытых бивалентов, унивалентов и мультивалентов в метафазе I и формирование тетрад с микроядрами). У 11 образцов отмечали варьирование числа хромосом от  $2n = 40$  до  $2n = 43$ . Эти образцы имели пониженный мейотический индекс (35-75 %) (PI 648571, PI 648599, PI 648767, PI 648842, PI 648760, PI 648757, PI 648580, PI 648529, PI 648687, PI 648843, PI 648491).

Ко II группе растений отнесли 10 генотипов, которые также расщеплялись по числу хромосом, но при этом 42-хромосомные растения по течению мейоза были стабильными и имели высокий мейотический индекс (PI 648558, PI 648576, PI 648660, PI 648827, PI 648861, PI 648561, PI 648864, PI 648611, PI 648633, PI 648833).

В III группу отобрали 45 образцов с правильным течением мейоза и высоким (80-90 %) мейотическим индексом (цитогенетически стабильные), которые пригодны для проведения исследований по генетике устойчивости к болезням (PI 648528, PI 648557, PI 648559, PI 648573, PI 648575, PI 648581, PI 648586, PI 648598, PI 648603, PI 648648, PI 648650, PI 648716, PI 648724, PI 648726, PI 648572, PI 648588, PI 648649, PI 648758, PI 648752, PI 648664, PI 648681, PI 648826, PI 648508, PI 648606, PI 648865, PI 648645, PI 648629, PI 613280, PI 613306, PI 613310, PI 613320, PI 613321, PI 613322, PI 648556, PI 648608, PI 648651, PI 648655, PI 648656, PI 648661, PI 648691, PI 648693, PI 648787, PI 648851, PI 648859, PI 648860).

При оценке этих образцов в течение 2 лет в полевых условиях по степени поражения мучнистой росой и бурой ржавчиной, а также по комплексу хозяйственно ценных признаков оказалось, что большинство из этой группы (80 %) были крупнозерными и имели массу 1000 зерен более 45 г и достоверно превосходили сорта мягкой пшеницы Родина и Лада по этому признаку. Максимальное развитие признака у сорта Родина составило 40,5 г, а для образцов синтетической пшеницы (PI 648557, PI 648575, PI 613280, PI 613321, PI 648851, PI 648787) — 53,0-56,6 г. Основная часть образцов синтетической пшеницы формировали достаточно продуктивный колос (на уровне стандартных сортов). Только два цитологически стабильных образца уступали стандартным сортам по массе зерна с главного колоса (PI 648826 и PI 648606) — 1,1 г. Ряд образцов (PI 648598, PI 648724, PI 648726, PI 648588, PI 648645, PI 613280, PI 613306, PI 648655, PI 648661, PI 648851) достоверно превосходили лучший сорт Лада по продуктивности колоса (2,2-2,5 г против 1,7 г). У этих генотипов продуктивность колоса и масса 1000 зерен не снижались и в условиях неблагоприятного засушливого 2010 года.

Константные образцы синтетической пшеницы переданы для оценки устойчивости к желтой и темно-бурой пятнистостям и идентификации генов устойчивости к ржавчинным грибам во Всероссийский НИИ защиты растений (г. Санкт-Петербург—Пушкин).

В IV группу отнесли 5 образцов, в которых все протестированные растения имели  $2n = 42$ , но в метафазе I мейоза отмечались нарушения: повышенная доля унивалентов и мультивалентов, которые привели к появлению тетрад с увеличенным числом микроядер. Эти растения имели пониженный мейотический индекс (57,1-79,8 %). Пыльца, которая формируется из таких микроспор, может стать причиной появления анеуплоидных растений в следующем поколении, то есть растения этих образцов еще недостаточно стабильны (PI 648550, PI 648756, PI 648489, PI 648610, PI 648621).

Полученные результаты позволяют понять наличие расщепления внутри образцов по морфологическим признакам, устойчивости к болезням и продолжить выделение и изучение стабильных форм. Можно сделать заключение, что в коллекции синтезированных пшениц продолжает идти формообразовательный процесс, в основе которого лежит формирование анеуплоидных растений. Вероятно, что наблюдаемое расщепление по опушению колоса, остистости, наличию/отсутствию воска на колосе и растении, гетерогенная реакция на проникновение бурой ржавчины (например, от  $1/1$  до  $1/3-4$ ; от  $1/0$  до  $25/3$ ) в пределах одного образца отражает этот формообразовательный процесс.

Таким образом, только у 63 % из изученных образцов мейоз происходил правильно и формировались нормальные тетрады (у остальных наблюдали варьирование числа хромосом у растений от  $2n = 40$  до  $2n = 43$ , отмечали нарушения в метафазе I мейоза — были выявлены униваленты и мультиваленты, и такие растения, как правило, имели пониженный мейотический индекс). Образцы с нормальным мейозом можно отнести к цитогенетически стабильным формам, и они пригодны для генетических исследований (определения наиболее вероятного числа генов, контролирующих устойчивость к бурой ржавчине, постулирования и идентификации генов устойчивости методом фитопатологического тестирования и ПЦР-анализа) и целенаправленного использования выделенных доноров устойчивости к бурой ржавчине в селекционных программах.

*ГНУ Московский НИИ сельского хозяйства*

*«Немчиновка» Россельхозакадемии,*

143026 Россия, Московская обл., Одинцовский р-н, р.п. Новоивановское,

ул. Калинина, 1,

e-mail: inna-lapochkina@yandex.ru

*Поступила в редакцию*

*21 января 2013 года*

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2014, № 3, pp. 77-82*

## CYTOGENETIC STUDY OF SYNTHETIC WHEATS FROM NATIONAL SMALL GRAIN COLLECTION OF USDA-ARS IN THE CONDITIONS OF NECHERNOZEMNAYA ZONE OF RUSSIA

*I.F. Lapochkina, I.V. Iordanskaya, G.L. Yachevskaya, Adkham Al Labban*

*Moscow Research Institute of Agriculture «Nemchinovka», Russian Academy of Agricultural Sciences, 1, ul. Kalinina,*

*г.п. Новоивановское, Odintsovo Region, Moscow Province, 143026 Russia, e-mail inna-lapochkina@yandex.ru*

*Received January 21, 2013*

*doi: 10.15389/agrobiology.2014.3.77eng*

*Acknowledgements:*

*Supported by ISTC, project 3352*

### Abstract

CIMMYT collection of synthetic wheats is widely used in breeding programs in many countries due to easy hybridization with domestic varieties, which enhances positive effects in the hybrids. In Russia this collection has never been checked for plant resistance to diseases or used for

breeding. We investigated 400 samples of synthetic wheats, obtained in 2009 from National Small Grains Collection (NSGC USDA-ARS, Idaho, USA) to be tested in Nechernozemnaya zone of Russia under brown rust and mildew infection. During 2 years the high-yielding samples were found which were resistant to brown rust, to mildew, and to both pathogens. Nevertheless, the plant response to brown rust attack differed, and the segregation was observed on morphological parameters of ears, leaves and stems. To elucidate why the instability appears, the chromosome conjugation in meiosis was examined and a meiotic index was calculated in 71 synthetic wheats. It was shown that only 63 % of the samples were cytogenetically stable. In the remaining samples the chromosome number varied from  $2n = 40$  to  $2n = 43$ , and different abnormalities (univalents and multivalents) were observed in meiotic metaphase I. Usually in these plants the meiotic index was lower. It is concluded that in the collection a genetic stabilization is still continuing by the appearance of aneuploids. For further genetic and breeding investigations, there are selected the forms with stable cytogenetic parameters, disease resistance and good yielding components (weight per 1000 kernels up to 56 g, and grain yield per ear up to 2.5 g).

Keywords: synthetic hexaploid wheats, wheat collection, meiosis.

## REFERENCES

1. Kihara H. Discovery of the DD analyser, one of the ancestors of *Triticum vulgare*. *Agricultural Horticulture*, 1944, 19: 889-890.
2. McFadden E.S., Sears E.R. The artificial synthesis of *Triticum spelta*. *Rec. Genet. Soc. Am.*, 1944, 13: 26-27.
3. McFadden E.S., Sears E.R. The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives. *J. Hered.*, 1946, 37: 81-89.
4. Tsitsin N.V. *Otdalennaya gibridizatsiya rastenii* [Distant hybridization of plants]. Moscow, 1954.
5. Lapchenko G.D. *Selektsiya i semenovodstvo*, 1967, 2: 33-38.
6. Cox T.S., Sears R.G., Bequette R.K., Martin T.J. Germplasm enhancement in winter wheat  $\times$  *Triticum tauschii* backcross populations. *Crop Sci.*, 1995, 35: 913-919.
7. Mujeeb-Kazi A., Rosas V., Roldan S. Conservation of the genetic variation of *Triticum tauschii* (Coss.) Schmalh. (*Aegilops squarrosa* auct. non L.) in synthetic hexaploid wheats (*T. turgidum* L. s. lat.  $\times$  *Triticum tauschii*;  $2n = 6x = 42$ , AABBDD) and its potential utilization for wheat improvement. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1996, 43: 129-134.
8. Eastwood R.F., Lagudah E.S., Appels R., Hannah M., Kollmorgen J.F. *Triticum tauschii*: a novel source of resistance to cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*). *Aust. J. Agr. Res.*, 1991, 42: 69-77.
9. Dreccer F.M., Borgognone G.M., Ogbonnaya F.C., Trethowan R.M., Winter B. CYMMYT-selected derived synthetic bread wheats for rainfed environments: yield evaluation in Mexico and Australia. *Field Crop. Res.*, 2007, 100: 218-228.
10. Yang W., Liu D., Li J., Zhang L., Wei H., Hu X., Zheng Y., He Z., Zou Y. Synthetic hexaploid wheat and its utilization for wheat genetic improvement in China. *J. Genet. Genomics*, 2009, 36(9): 539-546.
11. Warburton M.L., Crossa J., Franco J., Kazi M., Trethowan R., Rajaram S., Pfeiffer W., Zhang P., Dreisigacker S., Van Ginkel M. Bringing wild relatives back into the family: recovering genetic diversity in CIMMYT improved wheat germplasm. *Euphytica* (on-line), 2006 (doi: 10.1007/s10681-005-9077-0).
12. Zwart R.S., Bansal U.K., Thompson J.P., Williamson P.M., Bariana H.S. QTL mapping of multiple disease resistance traits in a synthetic hexaploid bread wheat population. *Proc. 11<sup>th</sup> Int. Wheat Genetic Symposium*. Brisbane, 2008: 1-3.
13. Lapochkina I.F., Adkham Al' Labban, Makarova I.Yu., Gainullin N.R., Zhemchuzhina A.I. *Izvestiya TSKHA*, 2011, 6: 39-48.
14. Adkham Al' Labban, Mineeva V.A., Lapochkina I.F. *Teoreticheskie i prikladnye problemy agropromyshlennogo kompleksa*, 2011, 4: 35-40.
15. Masoumeh Rezaei, Ahmad Arzani, Badraddin Ebrahim Sayed-Tabatabaei. Meiotic behavior of tetraploid wheats (*Triticum turgidum* L.) and their synthetic hexaploid wheat derivatives influenced by meiotic restitution and heat stress. *J. Genet.*, 2010, 89(4): 401-407.
16. Yatsko V.P., Yachevskaya G.L., Panina E.B., Fedorova T.N. *Tsitologiya i genetika*, 1972, 6(3): 253-258.
17. Mains E.B., Jackson H.S. *Phytopathology*, 1926, 16(1): 89-120.
18. Dospekhov B.A. *Metodika polevogo opyta* [Methods of field trials]. Moscow, 1979.