

УДК 575.222.73:[633.11+633.14]

О. А. ОРЛОВСКАЯ, академик Л. В. ХОТЫЛЕВА

ВЛИЯНИЕ ИНТРОГРЕССИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ЭГИЛОПСОВ В ГЕНОМЕ ГИБРИДНЫХ ЛИНИЙ ТРИТИКАЛЕ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЗЕРНА

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск

Поступило 24.03.2014

Введение. Тритикале объединяет в одном организме генетические потенциалы пшеницы и ржи и по таким важнейшим показателям, как урожайность и устойчивость к воздействиям биотических и абиотических стрессов часто превосходит обоих родителей. Несомненный интерес представляет использование данной культуры на пищевые цели. Хлебопекарные свойства у тритикале несколько ниже, чем у пшеницы, но благодаря высокому содержанию аминокислот и легкоусвояемого белка муку из тритикале можно использовать для выпечки диетических сортов хлеба, препятствующих ожирению, а также для производства других хлебобулочных изделий – печеня, пирожных, кексов, хлопьев. Более высокое содержание белка в зерне по сравнению с другими хлебными злаками, а также лучший аминокислотный состав позволяют использовать тритикале в качестве зернофуражной культуры, являющейся ценным сырьем для производства комбикормов. Однако для зерновых культур, выращенных на территории Беларуси, характерно невысокое содержание белка, в связи с чем создание высокобелковых сортов тритикале весьма актуально для нашей республики. В частности, для продовольственной отрасли требуется повысить содержание белка до 13–14 %, а для спиртовой промышленности – крахмала до 65–70 %.

В связи с этим расширение и качественное изменение спектра доступной отбору генотипической изменчивости тритикале представляется особенно актуальным. Перспективным решением данной проблемы является интрогрессия в кариотип тритикале чужеродного генетического материала, несущего гены высокой селекционной значимости. Интрогрессивная гибридизация с разными видами эгилопсов, пырея, с рожью и другими злаками используется для получения линий, устойчивых к бурой, желтой и стеблевой ржавчинам, мучнистой росе, гессенской мухе, а также другим вредителям и болезням [1; 2]. Существует ряд работ по улучшению генофонда тритикале путем скрещивания данной культуры непосредственно с дикими видами [3; 4]. Однако наиболее перспективным методом введения чужеродной информации в геном тритикале может оказаться использование для скрещивания разнообразных форм пшеницы, несущих чужеродные хромосомы, их фрагменты или даже целые геномы. В связи с этим ранее нами был предложен и экспериментально проверен новый способ интрогрессии генетического материала *Aegilops* L. в геном гексаплоидных тритикале [5]. Впервые в качестве посредника при переносе чужеродного материала эгилопсов использовали геномно-замещенные формы мягкой пшеницы сорта Аврора: Аврората (AABB^{UU}), Авродес (AABB^{SS}) и Авротика (AABB^{M'M'}), у которых геном D замещен соответственно на геномы *Ae. umbellulata*, *Ae. speltoides* и *Ae. mutica* [6]. Проведенный ранее молекулярно-цитогенетический анализ линий, полученных от скрещивания гексаплоидных тритикале с геномно-замещенными формами мягкой пшеницы, показал, что у девяти из десяти изученных линий произошли рекомбинационные события с участием хромосом эгилопсов и/или мягкой пшеницы [7].

Цель исследования – изучение влияния состава генома гибридных линий тритикале на биохимический состав зерна.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования служили 5 линий с различными перестройками генома, возникшими в результате отдаленной гибридизации сортов гексаплоидных тритикале с геномно-замещенными формами мягкой пшеницы (табл. 1) [7].

Т а б л и ц а 1. Результаты генотипирования линий, полученных от скрещивания тритикале с геномно-замещенными формами пшеницы Аврора

Линия (комбинация скрещивания)	GISH с ДНК <i>S. cereale</i>	Хромосомы с перестройками по результатам FISH с зондом pSc119.2	Геномный состав (гаплоидный), хромосомные перестройки
15 (Идея × Авролата)	12 хромосом <i>S. cereale</i>		w14 + r6 + u1 2R(2U)
12 (Альмо × Авролата)	14 хромосом <i>S. cereale</i>	1B	w14 + r7
29 (Модуль × Авродес)	14 хромосом <i>S. cereale</i>	7B	w14 + r7 T7BS/7SL
24 ₅ (Альмо × Авродес)	14 хромосом <i>S. cereale</i>	1B*	w14 + r7 T1SS/1BS · 1BL
21 ₁ (Идея × Авротика)	14 хромосом <i>S. cereale</i>	1B	w14 + r7

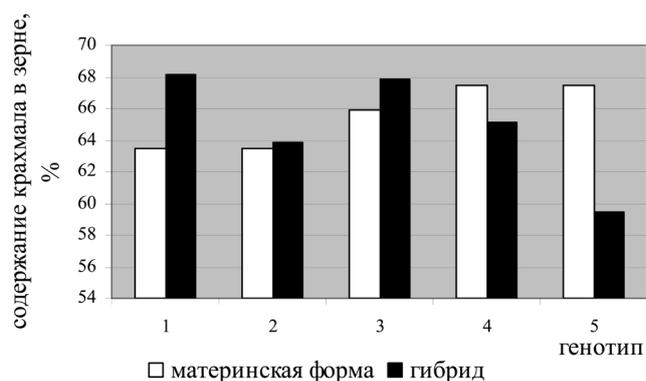
П р и м е ч а н и я: w – хромосомы *T. aestivum*, r – хромосомы *S. cereale*, u – хромосомы *Ae. umbellulata*; * – указывает на то, что хромосома несет блок повтора Spelt1.

Содержание белка и крахмала в зерне тритикале определяли в Центральной республиканской лаборатории по определению качества новых сортов растений ГУ «Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений».

Определение аминокислотного состава белков тритикале проводили на автоматическом аминокислотном анализаторе Т339 (Чехия). Белки предварительно подвергали гидролизу 6н HCl в течение 24 ч при температуре 105 °С в запаянных ампулах. После гидролиза HCl удаляли путем выпаривания образца на водяной бане при температуре 50 °С, затем аминокислоты растворяли в 5 мл цитратного буфера (рН 2,2), фильтровали через бумажный фильтр и использовали для анализа. В связи с распадом триптофана под действием соляной кислоты его содержание определяли отдельно после щелочного гидролиза [8].

Результаты и их обсуждение. Известно, что в растениях тритикале к фазе цветения в вегетативных органах концентрация азотистых веществ выше, чем у других зерновых. Колосья и зерновки этой культуры обладают большей аттрагирующей способностью, что обеспечивает лучшее использование увеличенного резерва азотистых веществ, который создается в вегетативных органах и обеспечивает большие потенциальные возможности для накопления белка в процессе налива [9].

Нами проведена оценка общего содержания белка и крахмала в зерне линий тритикале с генетическим материалом диплоидных видов *Aegilops* в сравнении с материнскими сортами тритикале. Известно, что геномно-замещенные формы пшеницы Авродес, Авролата, Авротика обладают высоким содержанием белка [6], что позволяет использовать их в скрещиваниях с тритикале с целью увеличения белковости данной культуры. По нашим данным, в зерне геномно-замещенной формы Авродес содержится 20,15 % белка, в зерне Авролаты – 20,61 %. У пяти изученных линий тритикале, созданных нами с участием данных форм, содержание белка в зерне варьировало от 11,86 до 17,67 %. Наибольшим значением по этому показателю характеризовалась линия 15 Идея × Авролата, у которой обнаружено замещение хромосомы 2R на хромосому 2U *Ae. umbellulata*. Содержание белка в зерне данной линии составило 17,67 %, что на 2,28 % больше, чем у родительского сорта тритикале. У линии 29 (Модуль × Авродес), которая по результатам FISH несет транслокацию T7BS·7SL от *Ae. speltoides* с разрывом в области центромеры, выявлено 14,14 % белка, что несколько выше, чем у исходного сорта Модуль (13,79 %). По данному показателю также можно выделить линию 24₅ Альмо × Авродес с терминальной транслокацией от *Ae. speltoides* в коротком плече хромосомы 1B – 16,02 %. У линий 21₁ Идея × Авротика и 12 Альмо × Авролата, несущих в своем геноме различные перестройки по хромосоме 1B, содержание белка в зерне не превышало таковое у родительских форм тритикале и составило 13,34 и 11,86 % соответственно. Однако линия 12 комбинации Альмо × Авролата обладала высо-



Содержание крахмала в зерне у гибридных линий тритикале в сравнении с материнской формой тритикале: 1 – Альмо × Авролата, 2 – Альмо × Авродес, 3 – Модуль × Авродес, 4 – Идея × Авротика, 5 – Идея × Авролата

ния промышленного крахмала, в этом отношении оно заметно превосходит даже сорта мягкой пшеницы.

Важным показателем качества белка является его аминокислотный состав, в связи с чем проведен анализ аминокислотного состава белка линий 15 Идея × Авролата, 24₅ Альмо × Авродес и их материнских форм тритикале (табл. 2). Среди аминокислот выявлены следующие: аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, валин, гистидин, глицин, глютаминовая кислота, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, пролин, серин, треонин, тирозин, фенилаланин, цистин, относящиеся к классу моноаминомонокарбоновых, моноаминодикарбоновых, диаминомонокарбоновых и гетероциклических аминокислот. Согласно полученным данным, у изученного материала больше всего обнаружено глютаминовой кислоты (27,05–28,47 %) и пролина (10,95–11,93 %). Выявлено, что гибридная линия 24₅ Альмо × Авродес по количеству глютаминовой кислоты и пролина превосходила сорт тритикале Альмо (табл. 2). Содержание данных аминокислот связывают с количеством клейковины, имеющей высокое содержание глютаминовых и пролиновых остатков.

Т а б л и ц а 2. Аминокислотный состав суммарных белков зерна гибридных линий тритикале в сравнении с материнскими формами тритикале (% на белок)

Аминокислота	Идея	Идея × Авролата	Альмо	Альмо × Авродес
Аланин	3,88	3,94	3,88	3,84
Аргинин	4,96	4,92	4,84	4,58
Аспарагиновая к-та	7,73	6,40	6,88	6,16
Валин	4,09	4,19	4,34	4,31
Гистидин	2,62	2,59	2,63	2,47
Глицин	4,04	4,16	4,47	4,06
Глютаминовая к-та	27,58	27,32	27,05	28,47
Изолейцин	3,01	3,18	3,02	3,11
Лейцин	6,10	6,33	6,23	6,21
Лизин	2,81	2,75	2,71	2,70
Метионин	1,04	1,05	1,03	1,17
Пролин	11,09	11,93	10,95	11,87
Серин	4,65	4,71	4,91	4,82
Тирозин	3,22	3,09	3,13	2,98
Треонин	2,79	2,77	3,02	2,84
Фенилаланин	4,35	4,50	4,30	4,24
Цистин	1,00	0,99	1,00	1,12
Суммарное количество незаменимых аминокислот	24,19	24,79	24,95	24,58

П р и м е ч а н и е. Выделены жирным шрифтом незаменимые аминокислоты.

Питательные качества белка определяются, прежде всего, количеством и составом незаменимых аминокислот, которые не синтезируются в организме человека и животных, а поступают с продуктами питания и кормами. К ним относятся лизин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, валин, фенилаланин.

Известно, что по содержанию данных аминокислот белок тритикале может быть более полноценным, чем белок пшеницы. Суммарное количество незаменимых аминокислот у изученного материала было достаточно велико и варьировало от 24,19 до 24,95 %. Гибридная линия 15 Идея × Аврората по данному показателю превышала исходный сорт тритикале. Можно отметить, что по количеству треонина и лизина данный гибридный образец был на уровне исходного сорта тритикале, а содержание валина, метионина, изолейцина, лейцина, фенилаланина у гибрида было выше, чем у материнского сорта Идея. Гибридная линия 24₅ Альмо × Авродес превосходила тритикале Альмо только по содержанию таких незаменимых аминокислот, как метионин, изолейцин, фенилаланин (табл. 2).

Заключение. Наибольшее содержание белка в зерне выявлено у линий тритикале 15, 29, 24₅, в геномах которых чужеродный материал эгилопса присутствует либо в виде целой хромосомы, либо в виде транслокации. Следует отметить, что линия 29 комбинации Модуль × Авродес превышала родительский сорт тритикале не только по содержанию белка, но и крахмала, а линия 15 Идея × Аврората – по количеству незаменимых аминокислот. Таким образом, реорганизация генома тритикале, произошедшая в результате интрогрессивной гибридизации гексаплоидных тритикале с геномно-замещенными формами мягкой пшеницы, способствует созданию новых хозяйственно ценных форм с повышенным содержанием белка, незаменимых аминокислот и крахмала в зерне.

Литература

1. *Schneider A., Molnar I., Molnar-Lang M.* // *Euphytica*. 2008. Vol. 163, N 1. P. 1–19.
2. *Trethowan R. M., Mujeeb-Kazi A.* // *Crop Science*. 2008. Vol. 48, N 4. P. 1255–1265.
3. *Arseniuk E., Gruszecka D., Tarkowski Cz.* // *Proceed. 4th Intern. Triticale Symp., 1998, July 26–31, Alberta, Canada*. Vol. 1. P. 303–311.
4. *Sodkiewicz W., Strzembicka A., Apolinarska B.* // *Plant Breeding*. 2008. Vol. 127. P. 364–367.
5. *Орловская О. А., Каминская Л. Н., Хотылева Л. В.* // *Генетика*. 2007. Т. 43, № 3. С. 363–369.
6. *Жиров Е. Г.* Геном пшеницы: исследование и перестройка: автореф. дис... д-ра биол. наук. Киев, 1990. – 34 с.
7. *Адолина И. Г., Орловская О. А., Терещенко О. Ю.* и др. // *Генетика*. 2011. Т. 47, № 4. С. 516–526.
8. *Плешков Б. П.* Практикум по биохимии растений. М., 1985. – 255 с.
9. *Павлов А. Н., Чергинец Б. И.* // *Агрехимия*. 1980. № 4. С. 89–95.
10. *Karpenstein-Machan M., Honermeier B., Harmann F.* *Triticale*. Frankfurt/Mein, 1994. – 144 p.

O. A. ORLOVSKAYA, L. V. KHOTYLEVA

O.Orlovskaya@igc.bas-net.by

EFFECT OF INTROGRESSION OF AEGILOPS GENETIC MATERIAL IN THE GENOME OF TRITICALE HYBRID LINES ON THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF GRAIN

Summary

The study of the influence of the genome composition of triticale lines with genetic material *Aegilops* diploid species on the biochemical composition of grain was made. The high content of protein and starch in the grain was detected in triticale lines, in which genomes *aegilops* foreign material is present either as an entire chromosome, or a translocation. The increase in the content of protein and essential amino acids is observed for the line carrying the 2R(2U) chromosome substitution. Thus, the triticale genome reorganization, which has occurred as a result of introgressive hybridization of hexaploid triticale and genome-substituted forms of wheat, contributes to the creation of new economically valuable forms with a high content of protein, essential amino acids, and starch in the grain.