

# АГРОНОМИЯ

УДК 633.1:631.526.32:543.545

В.Е. Ториков, Н.С. Шпилев, Ф.И. Клименков  
V.Ye. Torikov, N.S. Shpilev, F.I. Klimenkov

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СОРТОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

### ELECTROPHORETIC TECHNIQUES FOR CROPS VARIETY IDENTIFICATION

**Ключевые слова:** *тритикале, сорт, гибрид, семена, идентификация, первичное семеноводство, полиморфизм, глиадин, электрофорез, электрофоретический спектр.*

Основанием для выделения индивидуального генотипа является отличие его от других, по крайней мере, по одному четко идентифицированному компоненту. С уверенностью можно сказать, что среди индивидуальных зерновок гибридов первого поколения на основании электрофореза и его электрофоретического спектра можно выделить оригинальные генотипы. Идентификация компонентов электрофоретического спектра проламина индивидуальных зерновок растений гибридов первого поколения доказала их генетическую разнородность. Несмотря на то, что это мнение существовало априори (из предшествующих значений), впервые в цифровом формате установлено их генетическое различие. При установлении корреляционной связи отдельных компонентов и степени их выражения с ценными свойствами этот вывод позволит сделать селекционный процесс более управляемым и предсказуемым путем начала отбора ценных генотипов индивидуальных зерновок с гибридов первого поколения ( $F_1$ ). Для каждого сорта характерен индивидуальный набор аллелей глиадинокодирующих локусов, что позволяет использовать их для идентификации практически любого сорта. На основании полиморфизма глиадина исследуемых сортов тритикале выявлена общая генетическая основа. При этом одним из факторов формирования их генетической структуры, вероятно, является сопряженность некоторых аллелей генов запасных белков с адаптивными признаками. Эти аллели складывались в зависимости от агроклиматических особенностей региона (естественный отбор) и направления селекции (искусственный отбор). Высокий полиморфизм, хорошая изученность генетического контроля компонентов глиадина позволяют надежно использовать его электрофоретические спектры для маркирования отдельных генотипов, изучения внутривидовой структуры, анализа генотипов и хромосомного состава тритикале. Белки могут рассматриваться как «маркеры» структурных генов, которые их кодируют.

Сравнение состава белков от индивидуальных семян и линий популяции является сравнением изменений в экспрессии генов. Изучая достаточное количество маркеров, можно охватить большую часть генома. Так как генотипы сортов сельскохозяйственных растений различаются по аллелям генов, сравнение состава определенных белков позволяет проводить «типизацию» или «паспортизацию» материала. Электрофоретическое исследование состава запасных белков семян является эффективным и удобным методом характеристики генотипа растения, пригодным для идентификации сортов и гибридов. Альтернативным методом использования специфических красителей можно выявить множественные молекулярные формы определенных ферментов. Как и запасные белки, они напрямую экстрагируются из тканей. Генетический контроль многих ферментов хорошо изучен. Таким образом, нет недостатка в удобных белковых маркерах, встречаемых в большинстве сельскохозяйственных растений, будь то белки семян или изоферменты из различных тканей растений.

**Keywords:** *triticale, variety, hybrid, seeds, identification, primary seed growing, polymorphism, gliadin, electrophoresis, electrophoretic spectrum.*

The basis for the separation of an individual genotype is its difference from the others at least by one clearly identified component. It is safe to state that electrophoresis and its electrophoretic spectrum make it possible to sort out original genotypes among the individual grains of the hybrids of the first generation. The component identification of the prolamine electrophoretic spectrum of individual grains of the first generation hybrids has proven their genetic quality heterogeneity. Though the opinion existed a priori (from the previous values), their genetic difference was revealed in the digital format for the first time. If the correlation between the individual components with the degree of their manifestation and valuable properties is revealed, this conclusion will make the selection process more controllable and predictable due to the selection of valuable genotypes of individual grains of the first-generation hybrids ( $F_1$ ). Each variety is characterized by an individual set of alleles of gliadin-coding loci used to identify

almost any variety. On the basis of gliadin polymorphism of the studied triticale varieties, a common genetic basis has been revealed. At the same time, one of the factors of their genetic structure formation is probably the conjugation of some gene alleles of spare protein with adaptive features. These alleles were formed depending on the agro-climatic specifics of a region (natural selection) and the selection direction (artificial selection). High polymorphism, good knowledge of genetic control of gliadin components allow reliable use of its electrophoretic spectra for marking individual genotypes, study of intra-population structure, and analysis of genotypes and chromosomal composition of triticale. Proteins may be considered as “markers” of the structural genes that encode them. The comparison of protein composition of individual grains and population lines is

a comparison of changes in gene expression. Studying a sufficient number of markers, it is possible to cover most of the genome. Since the genotypes of crop varieties differ in genes alleles, the comparison of certain protein composition allows “type assignment” or “certification” of the material. Electrophoretic study of reserve protein composition is an effective and convenient method of characterizing the plant genotype, suitable for the identification of varieties and hybrids. As an alternative method of using specific dyes it may reveal multiple molecular forms of certain enzymes. Like reserve proteins, they are extracted directly from the tissues. The genetic control of many enzymes is well studied. Thus, there is no shortage of convenient protein markers found in most crops, whether they are grain proteins or iso-enzymes of various plant tissues.

**Ториков Владимир Ефимович**, д.с.-х.н., проф., Брянский государственный аграрный университет. E-mail: torikov@bgsha.com.

**Шпилев Николай Серафимович**, д.с.-х.н., проф., Брянский государственный аграрный университет. E-mail: torikov@bgsha.com.

**Клименков Федор Иванович**, к.с.-х.н., нач. лаб. экспертизы зерна и семян, Брянская межобластная ветеринарная лаборатория, Референтный центр, Россельхознадзор, Брянская обл. E-mail: fedorklim@inbox.ru.

**Torikov Vladimir Yefimovich**, Dr. Agr. Sci., Prof., Bryansk State Agricultural University. E-mail: torikov@bgsha.com.

**Shpilev Nikolay Serafimovich**, Dr. Agr. Sci., Prof., Dr. Agr. Sci., Prof., Bryansk State Agricultural University. E-mail: torikov@bgsha.com.

**Klimenkov Fedor Ivanovich**, Cand. Agr. Sci., Head, Grain and Seed Examination Lab., Bryansk Interregional Veterinary Laboratory, Reference Centre, Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoz nadzor), Bryansk Region. E-mail: fedorklim@inbox.ru.

### Введение

В настоящее время электрофорез используется в сортовой идентификации семян в первичном семеноводстве, а также для разработки новых национальных стандартов России на семена сельскохозяйственных растений. По мнению А.М. Малько (2005), научно обоснованные стандарты на семена сельскохозяйственных растений – важнейший инструмент регулирования их сортовых и посевных качеств в условиях рынка [1]. Установленный в них определенный уровень требований способствует получению высококачественных семян, служит основой для объективного ценообразования и успешного внедрения новых сортов. В условиях совершенствования организационных форм семеноводства, перевода его на рыночные отношения, а также в связи с необходимостью разработки технологий производства сортовых семян роль стандартов существенно возрастает.

Огромную роль в решении многих проблем селекции, а в последующем и в семеноводстве сыграли электрофоретические методы исследования клейковинных белков, которые разработаны в нашей стране в начале 70-х годов [2]. Были выполнены фундаментальные работы по генетике белков клейковины и консистенции эндосперма. Они позволили разработать номенклатуру аллелей

генов, составить каталоги, изучить связь с качеством, предложить шкалу для селекционного отбора лучших генотипов [3].

При анализе злаков в качестве белковых маркеров хорошо зарекомендовали себя электрофоретические спектры глиадина – запасного белка эндосперма зерновки. Высокий полиморфизм, хорошая изученность генетического контроля компонентов этого белка позволяют надежно использовать его электрофоретические спектры для маркирования отдельных генотипов, изучения внутривидовой структуры, анализа генотипов и хромосомного состава тритикале [3, 4].

Электрофорез в крахмальном геле позволяет проводить анализ в течение одних суток. В настоящее время получены электрофоретические спектры гордеина и определены его генетические формулы у эталонных образцов семян большинства сортов ярового ячменя, включенных в Государственный селекционный достижений.

Для каждого сорта характерен индивидуальный набор аллелей глиадинокодирующих локусов, что позволяет использовать их для идентификации практически любого сорта. На основании полиморфизма глиадина исследуемых сортов овса и ржи выявлена общая генетическая основа. При этом одним из факторов формирования их генетической структуры, вероятно, является со-

пряженность некоторых аллелей генов запасных белков с адаптивными признаками. Эти аллели складывались в зависимости от агроклиматических особенностей региона (естественный отбор) и направления селекции (искусственный отбор).

Успешное применение электрофоретических методов для идентификации сортов растений основано на том, что белки являются продуктами структурных генов, которые наследуются доминантно. Таким образом, белки могут рассматриваться как «маркеры» структурных генов, которые их кодируют. Следовательно, сравнением состава белков от индивидуальных семян и линий популяции является сравнение изменений в экспрессии генов. Изучая достаточное количество маркеров, можно охватить большую часть генома. Так как генотипы сортов сельскохозяйственных растений различаются по аллелям генов, сравнение состава определенных белков позволяет проводить «типизацию» или «паспортизацию» материала. При таком подходе необходимо рассматривать полиморфные белки, существующие во многих различных молекулярных формах [5-7].

При работе с семенами электрофоретическому анализу подвергают белки семян. Существует четыре типа белков, но наиболее пригодные для идентификации сортов являются запасные белки. Почти у всех видов запасные белки проявляют значительный полиморфизм в отношении заряда, размеров или обоих параметров. Более того, они кодируются генами в различных локусах, присутствуют в сравнительно больших количествах и легко экстрагируются. Следовательно, электрофоретическое исследование состава запасных белков семян является эффективным и удобным методом характеристики генотипа растения, пригодным для идентификации сортов и гибридов. Альтернативным методом использования специфических красителей можно выявить множественные молекулярные формы определенных ферментов. Как и запасные белки, они напрямую экстрагируются из тканей. Генетический контроль многих ферментов хорошо изучен. Таким образом, нет недостатка в удобных белковых маркерах, встречаемых в большинстве сельскохозяйственных растений, будь это белки семян или изоферменты из различных тканей растений.

Для эффективной работы по идентификации, определению сортовой чистоты и гибридности семян, используемые белки должны отвечать следующим требованиям: электрофореграммы используемых белков должны быть достаточно

сортоспецифичны, т.е. электрофоретические спектры белков большинства сортов должны хорошо различаться, а электрофореграммы белков гибридов должны четко отличаться от таковых родительских линий или форм. Это предполагает, с одной стороны, наличие нескольких генов и локусов, контролирующих белки, с другой, – множественный аллелизм этих генов или локусов. Электрофореграммы белков не должны зависеть от условий места возделывания, длительности и условий хранения семян [8-15].

#### Объекты и методика исследований

Идентификацию генотипов (отдельных зерновок тритикале) проводили методом электрофореза глиадиновых белков в полиакриламидном геле. Вертикальный электрофорез в пластинках проходил в 6,5%-ном ПААГ (полиакриламидном геле), содержащем 10% уксусной кислоты и 4М мочевины, выпускаемые фирмой «Реанал» (Венгрия). При этом использовали рекомендованные реактивы и оборудование: акриламид, NN-метиленбисакриламид, мочевина, TEMED, персульфат аммония, ледяная уксусная кислота, кумасин голубой G-250, трихлоруксусная кислота. Акриламид, метиленбисакриламид TEMED хранили при 4°C. Электрофорез в вертикальных пластинках ПААГ проводили на приборе фирмы «Хийу Каллур» (г. Таллин). Для электродов использовалась платиновая проволока диаметром 0,1-0,2 мм. Источник питания УИП-1, дающий напряжение не менее 500 В. Использовались также термостат, установка для фотографирования спектров с подсветкой снизу через матовое стекло, магнитная мешалка и микрошприц на 50 мкл.

Для установлений различий анализ проводили на единичных половинках зерновок, оставшуюся часть зерновки с зародышем использовали для посева, основываясь на том, что спектры глиадина, как и других проламинов, экстрагированных из различных частей зерновки, идентичны. Муку тритикале с каждой зерновки родительских форм и их гибридов переносили на плексигласовую пластину, заливали 10-кратным объемом 6М раствором мочевины и тщательно перемешивали. Время экстракции 2 ч при комнатной температуре. Экстракт наносили микрошприцем по 25 мкл в каждую стартовую ячейку гелевой пластинки. Гелевую среду готовили в цилиндре с притертой пробкой из следующих компонентов: мочевина – 12 г, ледяная уксусная кислота – 5 мл, акриламид – 3,25 г, метиленбисакриламид – 85, персульфат

аммония – 160 мл, TEMEND – 0,2. Все компоненты вносили в раствор последовательно, все тщательно перемешивали и доводили конечный объем водой до 50 мл. Гелевый раствор заливали доверху в предварительно собранные кассеты, вставляли гребенки для нормирования карманов, помещали в термостат, где в течение 1 ч при 50-60°C происходила полимеризация геля. После окончания полимеризации охлаждали до комнатной температуры, удаляли гребенки и устанавливали в прибор. Электродные отсеки заполняли предварительно охлажденным буфером (0,013 N уксусная кислота). Предварительный электрофорез, необходимый для удаления из геля персульфата аммония, проводили в течение 1,5-2 ч при электротоке 20 мА на пластинку до установления постоянного напряжения. После этого прибор с пластинами геля помещали на ночь в холодильник. Утром, не вынимая кассеты из прибора, буфер сливали, карманы в пластинках геля промывали свежим буфером. С помощью микрошприца в каждый карман вводили, подслаивая под буфер, 25 мкл белкового экстракта тритикале. Электродные отсеки заполняли буфером и прибор подключали к источнику питания. Средний электрод служил анодом (+), боковые катодом (-). Разделение белков проходило в течение 4 ч при токе 20 мА на пластинку в течение первого часа и 40 мА на пластинку в последующий период. Напряжение сначала 300 В, затем 580 В. На протяжении всего электрофореза прибор охлаждали проточной водой. По окончании электрофореза кассеты вынимали из прибора, стеклянные пластины с помощью скальпеля осторожно разъединяли. Пластины геля снимали со стекла и помещали в ванночку с раствором для фиксирования и окрашивания белков, который состоит из 200 мл 10%-ной ТХУ с 6 мл 0,25%-ного раствора Кумасин G-250. Раствор красителя готовили заранее, тщательно размешивая на магнитной мешалке в течение 3 ч. После промывания водой гелевые пластины консервировали, помещая на 20-30 мин. в 10%-ный раствор глицерина. Затем их сушили между двумя листами расплавленного и натянутого на барабан целлофана. Окрашенные и высушенные таким образом пластины смогут храниться предположительное время, фотографировали старые пластинки.

Использован способ записи глиадины, заключенный в электрофоретическом спектре в виде белковых формул по эталонному спектру, состав-

ленному на основе анализа глиадины большого числа сортов, форм и видов пшеницы и ее сородичей. Эталонный спектр состоит из четырех зон, соответствующих биохимическим фракциям  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\omega$ , каждая зона содержит определенное число позиций, которые могли быть заняты электрофоретическими компонентами. Глиадин имеет следующую структуру:  $\alpha$  1234567,  $\beta$  12345,  $\gamma$  12345,  $\omega$  12345678910.

Разнообразие типов электрофоретического спектра проломина создается за счет общего числа компонентов, их различного сочетания как в отдельных зонах, так и в целом спектре, а также за счет степени интенсивности одинаковых по электрофоретической подвижности компонентов.

В сортовых формулах интенсивные компоненты подчеркивают, слабые компоненты отмечают чертой над номером позиции, очень слабые – двумя чертами. При составлении таблиц белковых формул удобнее использовать цифровую оценку интенсивности полипептидов: 1 – слабый компонент, 2 – средний интенсивности, 3 – интенсивный. Компоненты по некоторым позициям представлены двумя или тремя субкомпонентами разной подвижности [5].

### Результаты исследований и их обсуждение

Использованные сорта озимой гексаплоидной тритикале в качестве родительских форм Рондо и Союз различались по всем компонентам электрофоретического спектра (табл. 1, 2). Так, у сорта Союз, использованного в качестве отцовской формы, присутствует компонент  $\alpha_4$ , слабее представлен  $\alpha_5$  и интенсивнее –  $\alpha_7$ , сравнении с сортом Рондо, использованным в качестве материнской формы.

Чётко просматриваются различия фракции  $\beta$  у используемых сортов в качестве родительских форм. У сорта Союз слабее представлены компоненты  $\beta_2$  и  $\beta_3$  в сравнении с сортом Рондо.

В исследуемых сортах компоненты  $\beta_5$  представляют субкомпонентами разной подвижности: у сорта Рондо –  $\beta_{5_2}$ , а у сорта Союз –  $\beta_5$  и  $\beta_{5_3}$ . Значительные различия зоны  $\gamma_1$  используемых сортов.

У сорта Союз присутствует компонент  $\gamma_1$ , отсутствующий у Рондо. Компонент  $\gamma_2$  у сорта Союз представлен слабее, при этом отсутствуют компоненты  $\gamma_{2_2}$  и  $\gamma_{2_3}$ , которые достаточно интенсивно представлены у сорта Рондо.

**Идентификация компонентов электрофоретического спектра проламина тритикале (родительские формы и гибрид F<sub>1</sub>)**

№ зерновок	α	β	γ	ω
	♀ Рондо			
I	$\overline{2}5\overline{6}7_17_2$	123 <sub>1</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>2</sub>	$\overline{2}1_2\overline{2}3\overline{3}4\overline{5}$	$\overline{=}1234_256_17_28_2\overline{9}_2$
(F <sub>1</sub> ) ♀ Рондо x ♂ Союз				
I	$\overline{2}567_17_2$	$\overline{1}23_13_23_345_1\overline{5}5_3$	$\overline{1}2_1\overline{2}2_334\overline{5}$	$\overline{=}1234_256_17_28_2\overline{9}_2$
II	$\overline{2}567_17_2$	$\overline{1}23_13_23_345_1\overline{5}5_3$	$\overline{1}2_1\overline{2}2_334\overline{5}$	$\overline{=}1234_256_17_28_2\overline{9}_2$
III	$\overline{2}567_17_2$	123 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>1</sub> 5 <sub>3</sub>	$\overline{1}2_33\overline{4}5$	$\overline{1}234_256_17_28_1\overline{8}_2\overline{9}_2$
IV	$\overline{2}567_17_2$	123 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>1</sub> 5 <sub>3</sub>	$\overline{1}2_33\overline{4}5$	$\overline{1}234_256_17_28_1\overline{8}_2\overline{9}_2$
V	$\overline{2}57_17_2$	123 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>1</sub> 5 <sub>3</sub>	$\overline{=}12_2\overline{2}3\overline{3}4\overline{5}$	$\overline{1}234_256_17_28_1\overline{8}_2\overline{9}_2$
VI	$\overline{2}57_17_2$	$\overline{=}123_23_34_14_25_1\overline{5}_2$	$\overline{=}12_2\overline{2}3\overline{3}4\overline{5}$	$\overline{1}234_256_17_28_1\overline{8}_2\overline{9}_2$
VII	$\overline{2}567_17_2$	123 <sub>3</sub> 4 <sub>1</sub> 4 <sub>2</sub> 5 <sub>1</sub> 5 <sub>3</sub>	$\overline{1}2_1\overline{2}2_334\overline{5}$	$\overline{1}234_256_17_28_1\overline{8}_2\overline{9}_2$
VIII	$\overline{2}4567_17_2$	123 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 45 <sub>1</sub> 5 <sub>3</sub>	$\overline{1}2_33\overline{4}5$	$\overline{1}234_256_16_27_28_2\overline{9}_2$
♂ Союз				
I	$\overline{2}4567_17_2$	123 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 45 <sub>1</sub> 5 <sub>3</sub>	$\overline{1}2_1\overline{3}4\overline{5}$	$\overline{1}234_256_26_37_28_2\overline{9}_2$

Существенные различия электрофоретических спектров исследуемых сортов установлены по компоненту ω. У сорта Рондо присутствует ω<sub>61</sub>, а у сорта Союз фракция ω представлена двумя субкомпонентами б<sub>2</sub> и б<sub>3</sub>.

На основании чего можно сделать вывод о том, что используемые для половой гибридизации сорта в качестве родительских форм существенно различаются по электрофоретическому спектру проламинов, следовательно, имеют различающуюся генетическую природу.

В целом эталонный спектр проламинов имеет следующую структуру: α 1234567, β 12345, γ 12345, ω 12345678910. По фракции α меньшей интенсивностью отмечались зерновки V и VI, несмотря на то, что обе родительские формы представлены одинаковой интенсивностью компонента α<sub>2</sub>, а также в этих зерновках отсутствовал компонент α<sub>6</sub>.

В остальных зерновках компонент α<sub>6</sub> проявлялся с разной степенью интенсивности: в зернах II – интенсивно; III, IV, VII – слабо, VIII – очень слабо. У обеих родительских форм компонент α<sub>6</sub> представлен одинаковой, очень слабой, интенсивностью.

По компоненту α<sub>5</sub> исследуемые генотипы различались только по степени интенсивности, зерновки I, II, VIII – интенсивные компоненты, как у материнского сорта Рондо, зерновки III, IV, V, VI, VII – со слабой интенсивностью, как у отцовского сорта Союз.

Компонент по позиции α<sub>7</sub> представлен двумя субкомпонентами – 7 и 7<sub>2</sub>, при этом зерновки I и II имели слабую интенсивность по субкомпоненту 7<sub>1</sub>, как у материнской формы, остальные зерновки соответствовали компоненту α<sub>7</sub> отцовского сорта Союз.

По фракции β установлена значительная разница интенсивности компонентов у гибридных зерновок как в пределах гибридов F<sub>1</sub>, так и в сравнении с родительскими формами. Компонент 1 у родительских форм представлен одинаково интенсивно. У зерновых I, II слабо, а у VI зерновки очень слабо проявлялся компонент 1. По компоненту 2 зерновки I, II, III, IV, VI соответствовали отцовской форме, а зерновки V, VII, VIII были идентичны с материнским сортом Рондо.

По компоненту β полученные генотипы также значительно различались. Зерновки I и II имели субкомпоненты 3<sub>1</sub>, 3<sub>2</sub>, 3<sub>3</sub>, зерновки III, IV, V, – субкомпоненты 3<sub>1</sub> 3<sub>2</sub>, зерновка VII – компонент 3<sub>2</sub>, а VIII –компоненты 3<sub>1</sub> и 3<sub>2</sub>.

Компонент 4 представлен одинаково у зерновых I, II, III, IV, V, VIII и соответствовал обоим родительским формам. Зерновка VI отличалась присутствием субкомпонента 4<sub>1</sub> и 4<sub>2</sub>, а зерновка VII имела субкомпонент 4<sub>2</sub>.

При анализе в целом фракции β установлено, что она наиболее полно представлена у использованных нами родительских форм при гибридизации и у полученных гибридных зерновок первого поколения в сравнении с эталонным спектром проламина.

Спектр проламина  $\beta$  фракции существенно различался у индивидуальных гибридных зерновок по компонентам и степени интенсивности. Компонент 1 присутствовал у всех исследуемых зерновых гибридов первого поколения, а интенсивность была высокой у IV и VIII зерновок, слабое проявление у I, II, III, VIII зерновок и очень слабое у V и VI зерновок.

Сравнение с родительскими формами показывает, что компонент 1 отсутствовал у материнской формы сорта Рондо и интенсивно проявлялся у отцовской формы сорта Союз. Компонент 2 присутствовал у обеих родительских форм и у всех зерновок, при этом у материнского сорта Рондо этот компонент представлен субкомпонентами  $2_1$ ,  $2_2$ ,  $2_3$ , а у отцовского сорта Союз – субкомпонентом  $2_1$ . У гибридного потомства компонент 2 представлен у трех зерновок субкомпонентами  $2_1$ ,  $2_2$ ,  $2_3$  – I, II, VII зерновки.

Три зерновки имели компонент  $2_3$  – III, IV, VIII. Двумя субкомпонентами ( $2_2$  и  $2_3$ ) представлены 2 зерновки – V и VI.

Компоненты 3 и 5 одинаково предоставлены у материнских и отцовских форм и незначительно различались у индивидуальных зерновки  $F_1$ .

Фракция  $\omega$  представлена у гибридов и у родительских форм одинаковыми компонентами – 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 и лишь незначительно различалась по их интенсивности. Это свидетельствует о том, что степень генетического различия индивидуальных зерновок гибридных растений первого поколения определяется генетической разнокачественностью родительских форм. Компонент 6 у I, II, III, IV, V, VI, VII зерновок был одинаков и соответствовал компоненту материнского сорта Рондо.

У восьмой зерновки этот компонент представлен субкомпонентами  $6_1$  и  $6_2$ . Субкомпонент  $6_3$ , имеющийся у отцовского сорта Союз, не проявлялся. Компонент 8 одинаково проявился у I, II, VIII зерновок, он также был представлен у обеих родительских форм. У зерновок III, IV, V, VI, VII компонент 8 представлен субкомпонентами  $8_1$  и  $8_2$ , несмотря на то, что субкомпонент  $8_1$  отсутствовал у родительских форм.

Полученные гибриды первого поколения  $F_1$  – растения, которые по фенотипу ничем не отличались. В их колосьях сформировались зерновки с индивидуальной генетической природой, которая существенно отличалась не только в сравнении с родительскими формами, но и между собой.

Это наглядно подтверждено графическим и цифровым изложением электрофоретического спектра индивидуальных зерновок с растений гибридов первых поколений.

У индивидуальных зерновок с растений гибридов первого поколения выявлено широкое разнообразие типов электрофоретического спектра проламина. Оно создается за счет общего числа компонентов и их различного сочетания как в отдельных зонах, так и в целом спектре, а также за счет степени интенсивности одинаковых по электрофоретической подвижности компонентов.

Фракции  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\omega$  и определенные компоненты этих фракций в спектрах сортов индивидуальных зерновок представлены отчетливо и хорошо идентифицированы.

Из восьми проанализированных зерновок  $F_1$  гибридной комбинации Рондо  $\times$  Союз на долю основного типа спектра по фракции  $\alpha$  пришлось 6 шт., что указывает на неширокое разнообразие.

Гибридная комбинация  $\text{♀}$  Доктрина 110  $\times$   $\text{♂}$  Дубрава показывает, что все фракции проламинов тритикале также различаются между собой как между родительскими формами, так и между индивидуальными гибридными зерновками  $F_1$ . Фракция  $\alpha$  материнского сорта Доктрина 110 имела состав 2 4 5 6 7<sub>2</sub>, фракция  $\beta$  – 1 2 3<sub>1</sub> 3<sub>2</sub>, фракция  $\gamma$  – 3 4 5, фракция  $\omega$  – 1 2 3 4 5 6<sub>1</sub> 6<sub>3</sub> 7<sub>1</sub> 7<sub>2</sub> 8<sub>1</sub> 9<sub>2</sub> 10<sub>2</sub>. Фракция  $\alpha$  отцовского сорта Дубрава имела состав 5 6 7<sub>2</sub>, т.е. отсутствуют компоненты 2, 4, а компоненты 5, 6 представлены интенсивнее. Фракция  $\beta$  имела состав 1 2 3<sub>2</sub> 3<sub>3</sub> 4 5<sub>1</sub> 5<sub>2</sub>, при этом компоненты 2 3<sub>2</sub> представлены слабее, компонент 4 очень слабо и присутствует компонент 5<sub>1</sub> 5<sub>3</sub>, которого не было у материнского сорта. По фракции  $\gamma$  сорт Дубрава представлен компонентами 1 3, т.е. присутствовал компонент 1 и отсутствовал компонент 5.

По фракции  $\omega$  родительские формы и их гибриды имели одинаковые компоненты, различающиеся по интенсивности (табл. 2). Гибридные зерновки по фракциям  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\omega$  имели разные комбинации родительских компонентов, различались по интенсивности, а по фракции  $\gamma$  у гибридных зерновок появились «новообразования», компонент  $2_1$   $2_2$ .

Общая характеристика  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  фракций показывает, что они относятся к низкополиморфным (менее 10), а фракция  $\omega$  – к среднеполиморфным (10-20).

**Идентификация компонентов электрофоретического спектра проламина тритикале (родительские формы и гибрид F<sub>1</sub>)**

№ зерновок	α	β	γ	ω
	♀ Доктрина 110			
I	2 4 5 6 7 <sub>2</sub>	123 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub>	3 4 5	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
(F <sub>1</sub> ) ♀ Доктрина 110 x ♂ Дубрава				
I	24567 <sub>2</sub>	123 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>2</sub>	1 2 2 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
II	24 5 6 7 <sub>2</sub>	1 2 3 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>2</sub> 5 <sub>3</sub>	1 2 1 2 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
III	2 4 5 6 7 <sub>2</sub>	23 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>2</sub> 5 <sub>3</sub>	1 2 1 2 2 3 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
IV	24567	1 2 3 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45	1 2 1 2 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 8 <sub>2</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
V	24 5 6 7	1 2 3 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 4 5		1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 8 <sub>2</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
VI	24 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>3</sub>	1 2 3 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>1</sub> 5 <sub>2</sub>	1 2 1 2 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 8 <sub>2</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
VII	24 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>3</sub>	1 2 3 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>1</sub> 5 <sub>2</sub>	1 2 1 2 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 8 <sub>2</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
VIII	24 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>3</sub>		1 2 1 2 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 8 <sub>2</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
IX	2 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>3</sub>	1 2 3 <sub>1</sub> 3 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 45 <sub>1</sub> 5 <sub>2</sub>	1 2 1 2 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 7 <sub>2</sub> 8 <sub>1</sub> 8 <sub>2</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>
♂ Дубрава				
I	567 <sub>2</sub>	1 2 3 <sub>2</sub> 3 <sub>3</sub> 4 5 1 5 <sub>3</sub>	1 3	1 2 3 4 5 6 7 <sub>1</sub> 8 <sub>1</sub> 8 <sub>2</sub> 9 <sub>2</sub> 10 <sub>2</sub>

Учитывая Методические рекомендации (2004), можно сделать вывод, что основанием для выделения индивидуального генотипа является отличие его от других, по крайней мере, по одному четко идентифицированному компоненту. С уверенностью можно сказать, что среди индивидуальных зерновок гибридов первого поколения на основании электрофореза можно выделить оригинальные генотипы.

Идентификация компонентов электрофоретического спектра проламина индивидуальных зерновок растений гибридов первого поколения доказала их генетическую разнокачественность. Несмотря на то, что это мнение существовало априори (из предшествующих значений), впервые в цифровом формате установлено их генетическое различие. При установлении корреляционной связи отдельных компонентов и степенью их выражения с ценными свойствами этот вывод позволит сделать селекционный процесс более управляемым и предсказуемым путем начала отбора ценных генотипов индивидуальных зерновок с гибридов первого поколения (F<sub>1</sub>).

**Библиографический список**

1. Малько А.М. Качество семян важнейших сельскохозяйственных растений в Российской Федерации. – М.: Икар, 2005. – 70 с.  
 2. Конарев В.Г., Пенева Т.И. Биохимические и молекулярно-генетические аспекты селекции зерновых на белок // Проблемы белка в сельском

хозяйстве: научные труды ВАСХНИЛ. – М.: Колос, 1975. – С. 131-140.

3. Николаев А.А., Фисенко А.В., Брежнева Т.А., Упелниек В.П., Драгович А.Ю. Полиморфизм глинада у современных сортов яровой мягкой пшеницы Сибири // Селекция и семеноводство. – 2006. – № 4. – С. 13-18.

4. Поморцев А.А., Лялина Е.В. Идентификация и оценка сортовой чистоты семян ячменя методом электрофоретического анализа запасных белков зерна. – М.: Изд-во МСХА., 2003. – 83 с.

5. Методика проведения лабораторного сортового контроля по группам сельскохозяйственных растений. – М.: Изд-во ФГНУ «Росинформгротех», 2004. – 95 с.

6. Пенева Т.И., Конарев В.Г. Выявление внутрисортного полиморфизма у ржи по спектру глинада // Докл. ВАСХНИЛ. – 1978. – № 4. – С. 12-14.

7. Писарев О.В., Жилкина М.Д. Тритикале (2n=42) // Генетика. – 1967. – № 4. – С. 3-12.

8. Ториков В.Е., Мельникова О.В., Бельченко С.А., Шпилев Н.С. Производство семян и посадочного материала. – Брянск: Изд-во БГАУ, 2015. – 187 с.

9. Способ воспроизводства сортов зерновых культур: патент на изобретение 2558255 Рос. Федерация / Ториков В.Е., Белоус Н.М., Шпилев Н.С., Лебедько Л.В.; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Брянский государственный аграрный универси-

тет». – № 2013154151/10; заявл. 05.12.2013; опубл. 2015.

10. Шпилев Н.С., Ториков В.Е. Оригинальное семеноводство как фактор повышения урожайности зерновых культур // Плодоводство и ягодоводство России. – 2017. – Т. XXXXVIII. – № 1. – С. 296-299.

11. Шпилев Н.С., Ториков В.Е., Лебедько Л.В. Селекционные достижения и их использование в сельскохозяйственном производстве // Агроэкологические аспекты устойчивого развития АПК // Матер. XIII науч.-практ. конф. – Брянск: БГАУ, 2016. – С. 100-103.

12. Шпилев Н.С. Селекция возделывания и использования сортов тритикале. – Брянск: Изд-во Брянской ГСХА, 2001. – 223 с.

13. Шпилев Н.С., Ториков В.Е., Клименков Ф.И. Совершенствование оригинального семеноводства зерновых культур // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 3 (67). – С. 3-5.

14. Grabovets, A.I. Breeding of triticale for baking purposes / A.I. Grabovets, A.V. Krokmal, G.F. Dremucheva, O.E. Karchevskaya // Russian Agricultural Sciences. – 2013. – Vol. 39. – No. 3. – P. 197-202.

15. Grabovets, A.I. Problems of breeding triticale with a high grain starch content and its use / A.I. Grabovets N.R. Andreev, A.V. Krokmal, N.A. Shevchenko // Russian Agricultural Sciences. – 2013. – Vol. 39. – No. 5-6. – P. 399.

### References

1. Malko A.M. Kachestvo semyan vazhneyshikh selskokhozyaystvennykh rasteniy v Rossiyskoy Federatsii. – M.: Izd-vo Ikar, 2005. – 70 s.

2. Konarev V.G., Peneva T.I. Biokhimicheskie i molekulyarno-geneticheskie aspekty seleksii zernovykh na belok // Problemy belka v selskom khozyaystve: Nauchnye trudy VASKhNIL. – M.: Izd-vo Kolos, 1975. – S. 131-140.

3. Nikolaev A.A., Fisenko A.V., Brezhneva T.A., Upelnik V.P., Dragovich A.Yu. Polimorfizm gliadina u sovremennykh sortov yarovoy myagkoy pshenitsy Sibiri // Seleksiya i semenovodstvo. – 2006. – No. 4. – S. 13-18.

4. Pomortsev A.A., Lyalina Ye.V. Identifikatsiya i otsenka sortovoy chistoty semyan yachmenya metodom elektroforeticheskogo analiza zapasnykh belkov zerna. – M.: Izd-vo MSKhA., 2003 – 83 s.

5. Metodika provedeniya laboratornogo sortovogo kontrolya po gruppam selskokhozyaystvennykh rasteniy. – M.: Izd-vo FGNU «Rosinformagrotekh», 2004. – 95 s.

6. Peneva T.I., Konarev V.G. Vyyavlenie vnutrisortovogo polimorfizma u rzhi po spektru gliadina // Dokl. VASKhNIL. – 1978. – No. 4. – S. 12-14.

7. Pisarev O.V., Zhilkina M.D. Triticale (2n=42) // Genetika. – 1967. – No. 4. – S. 3-12.

8. Torikov V.Ye. Proizvodstvo semyan i posadchnogo materiala / V.Ye. Torikov, O.V. Melnikova, S.A. Belchenko, N.S. Shpilev. – Bryansk: Izd-vo BGAU, 2015. – 187 s.

9. Sposob vosproizvodstva sortov zernovykh kultur: patent na izobretenie 2558255 Ros. Federatsiya / Torikov V.Ye., Belous N.M., Shpilev N.S., Lebedko L.V.; patentoobladatel Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego obrazovaniya «Bryanskiy gosudarstvennyy agrarnyy universitet». – No. 2013154151/10; yayavl. 05.12.2013; opubl. 2015.

10. Shpilev N.S., Torikov V.Ye. Originalnoe seменоводство как фактор повышения урожайности зерновых культур // Плодоводство и ягодоводство России. – 2017. – Т. XXXXVIII. – No. 1. – S. 296-299.

11. Shpilev N.S. Seleksionnye dostizheniya i ikh ispolzovanie v selskokhozyaystvennom proizvodstve / N.S. Shpilev, V.Ye. Torikov, L.V. Lebedko // Agroekologicheskie aspekty ustoychivogo razvitiya APK // Materialy XIII nauchno-prakticheskoy konferentsii. – Bryansk: BGAU, 2016. – S. 100-103.

12. Shpilev N.S. Seleksiya vozdelvaniya i ispolzovaniya sortov tritikale. – Bryansk: Izd-vo Bryanskoy GSKhA, 2001. – 223 s.

13. Shpilev N.S. Sovershenstvovanie originalnogo semenovodstva zernovykh kultur / N.S. Shpilev, V.Ye. Torikov, F.I. Klimenkov // Vestnik Bryanskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii. – 2018. – No. 3 (67). – S. 3-5.

14. Grabovets, A.I. Breeding of triticale for baking purposes / A.I. Grabovets, A.V. Krokmal, G.F. Dremucheva, O.E. Karchevskaya // Russian Agricultural Sciences. – 2013. – Vol. 39. – No. 3. – P. 197-202.

15. Grabovets, A.I. Problems of breeding triticale with a high grain starch content and its use / A.I. Grabovets N.R. Andreev, A.V. Krokmal, N.A. Shevchenko // Russian Agricultural Sciences. – 2013. – Vol. 39. – No. 5-6. – P. 399.

