

на 18–20, 25–27 см	б/удобр.	70–80	2,93	4,4	13,1	48,6	2,01	9,53	2,1
		60–70	2,31	3,7	10,7	42,8	1,18	7,0	1,6
		70–80	2,44	3,8	11,9	44,0	1,26	7,41	1,8
Безотвальная вспашка на 18–20, 25–27 см	NPK	60–70	2,54	4,2	12,2	42,8	2,02	7,87	2,1
		70–80	2,70	4,5	12,8	51,7	2,17	9,05	2,3
	б/удобр.	60–70	2,05	3,8	10,3	45,6	1,19	6,74	1,7
		70–80	2,32	4,1	11,8	48,7	1,24	7,17	2,0
Плоскорезная обра- ботка на 18–20, 25–27 см	NPK	60–70	2,11	4,22	10,9	41,6	1,71	8,03	1,9
		70–80	2,43	4,5	11,9	46,7	1,82	8,98	2,0
	б/удобр.	60–70	1,74	3,7	10,0	39,1	1,12	6,78	1,5
		70–80	2,02	3,9	11,0	42,8	1,20	6,95	1,7

4. Экономическая эффективность культур орошаемых севооборотов в зависимости от удобрений, фонов 70–80 % НВ на отвальной вспашке за 2000–2007 годы

Чередование культур	Показатели, тыс.руб./га					
	стоимости продукции		прямые затраты		чистый доход	
	NPK	б/удоб.	NPK	б/удоб.	NPK	б/удоб.
Севооборот 1						
Ячмень (зерно) с подсевом люцерны	20,0	17,5	6,7	5,6	15,3	11,9
Люцерна 2–3-го года жизни на корм	28,8	38,0	2,6	2,2	26,2	35,8
Озимая пшеница, зерно	36,0	29,0	6,4	5,2	22,4	32,8
Картофель, клубни	134	105	42,0	39,5	92,0	56,0
Подсолнечник, семена	15,6	13,6	10,2	8,9	5,4	4,7
В среднем по севообороту 1 за год	44,8	39,6	13,0	11,3	41,8	38,3
Севооборот 2						
Горох на зерно	17,4	14,4	8,3	7,0	7,7	6,4
Озимая пшеница + пожн. смесь на корм	26,4	22,8	7,6	5,8	19,1	17,7
Кукуруза на силос	3,1	3,0	1,8	1,7	1,2	1,16
Кукуруза на зерно	48,7	44,0	10,6	8,8	38,4	36,3
Соя на зерно	42,0	7,56	6,2	4,4	5,7	3,0
Кукуруза на зерно	47,5	37,0	11,1	9,6	34,8	26,3
Подсолнечник	12,6	10,8	10,2	8,9	2,6	2,1
В среднем по севообороту 2 за год	27,9	23,2	10,9	7,7	16,3	15,5

УДК [581.1]: 577.112.826

ЭТАЛОНЫ ЭЛЕКТРОФОРГРАММ ПРОЛАМИНОВ ЗЕРНА В СОРТОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛАБОРАТОРНЫМИ МЕТОДАМИ

М. М. Копусь, А. П. Самофалов, А. Р. Маркарова, Н. Г.
Игнатъева,
Всероссийский НИИ зерновых культур им. И. Г. Калининко

А. В. Крохмаль, М. А. Фоменко
Северо-Донецкая Государственная с/х опытная станция

В. П. Нецветаев
Белгородский НИИСХ

Изучены электрофореграммы проламинов зерна коммерческих сортов пшениц и тритикале, созданных в различных регионах России. Составлены каталоги формул эталонных спектров для использования их в лабораторном сортовом контроле элитных и репродукционных семян.

Введение. Проблема идентификации сортов, гибридов и генотипов культурных растений – одна из наиболее старых и непрерывно актуальных в земледелии. Первоначально сорта дифференцировали только по некоторым наиболее заметным морфологическим признакам, например, пшеница остистая или безостая, краснозёрная или белозёрная, ячмень с шестирядным или двухрядным колосом. С момента возникновения научной селекции и поступления на рынок товарных семян селекционных сортов проблема их идентификации приобрела особую, в том числе, коммерческую значимость [1]. В настоящее время в Госреестре РФ находятся более 8000 сортов сельскохозяйственных культур. Только в Госреестр Ростовской области в 2008 году по зерновым (пшеница, рожь, тритикале) и зернофуражным (овёс, ячмень) культурам был внесен 221 сорт [2].

Очевидно, что оценка сортовой чистоты и сортовой принадлежности путём апробации и грунтового контроля не всегда может быть гарантированной, поскольку они основываются исключительно на морфологических признаках, которые весьма ограничены и носят сезонный характер [3].

Исходя из современных представлений, наиболее полная информация об индивидуальных особенностях организмов содержится в ядерной ДНК (ПЦР, ПДРФ и др.). Но пока ещё все эти методы достаточно сложны и использовать их для систематической идентификации генов или исследования сортовой чистоты семян не представляется возможным. Куда более доступными и отвечающими требованиям оценки сортов не по фенотипу, а по генотипу являются белковые маркеры и в частности проламиновые белки зерна [4]. А разработка генетической номенклатуры глиадинов позволила внести в исследование сортового и внутрисортового полиморфизма генетическую основу [5].

И только в 2004 году для претворения в жизнь Федерального закона «О семеноводстве» (статья 26), где наряду с апробацией и грунтовым контролем посевов предусмотрено введение лабораторного контроля сортовой чистоты и сортового соответствия элитных и репродукционных семян, были собраны отечественные

разработки по электрофорезу белков в единую методику проведения лабораторного сортового контроля по группам сельскохозяйственных растений [6]. Использование данных электрофореза позволяет быстро и эффективно определять сортовое соответствие и сортовую чистоту не только семенных, но и товарных партий.

Очень важно в лабораторном сортовом контроле иметь эталоны электрофореграмм, с которыми в дальнейшем можно сравнивать электрофореграммы анализируемых коммерческих сортов, находящихся в обороте. Вполне естественно, что образцы сортов, выращенных авторами-оригинаторами, могут быть использованы для записи эталонных спектров.

Для записи эталонных спектров сортов важно знать не только суммарный спектр, получаемый при анализе смеси зёрен, но и биотипный состав образца, получаемый при анализе отдельных зёрен, поскольку многие сорта полиморфны (мультилинейны), а также наличие примесей, определить которые можно только при анализе отдельных зёрен.

Задачей наших исследований было изучение чистоты, соответствия, внутривидового полиморфизма по проламиновым белкам пшеницы и тритикале, созданных в различных регионах (НИИ) с целью оформления альбомов и каталогов формул эталонных спектров электрофореграмм этих сортов и линий для использования их в лабораторном сортовом контроле элитных и репродукционных семян.

Методика. Для анализов использовали образцы зерна сортов пшеницы и тритикале, внесённых в Государственный реестр селекционных достижений РФ, выращенных в конкурсных сортоиспытаниях отделов селекции и семеноводства этих культур в Белгородском НИИ сельского хозяйства (БелНИИСХ), Северо-Донецкой государственной с-х. опытной станции (СДГСХОС-ДЗНИИСХ) и Всероссийским НИИ зерновых культур им. И. Г. Калиненко (ВНИИЗК). На анализ для определения чистосортности и биотипного состава брали отдельные зёрна от каждого образца (50–100 шт.). Для суммарного спектра размалывали не менее 1000 зёрен. Общая навеска исходного (отобранного) образца – не менее 1 кг.

Электрофорез проламинов (глиадинов) проводили по стандартной методике на крахмальном геле, запись электрофореграмм осуществляли по составленным ранее каталогам [7, 8].

Результаты. Эталонные спектры электрофореграмм глиадинов сортов озимой мягкой пшеницы селекции БелНИИСХ, с которыми в

2008 году велось семеноводство, приведены в таблице 1.

1. Эталонные спектры коммерческих сортов озимых мягких пшениц БелНИИСХ, 2008 г.

Сорт	Биотип	Глиадин							%	SDS Седиментация, мл
		1A	1B	1D	6A	6B	6D	оценка		
Синтетик	Σ	4	3	$\frac{2+5}{56+44}$	3	1	2	С	100	50
	1б	4	3	2	3	1	2	Уд	55	
	2б	4	3	5	3	1	2	С	42	
примесь									3	
Ариадна	Σ	4	1	7	3	1	2	О	100	56
	1б	4	1	7	3	1	2	О	100	
Богданка	Σ	4	4н	5	3	1	1	Х+	100	52
	1б	4	4н	5	3	1	1	Х+	95	
примесь									5	
Уни-1	Σ	2	1	0	3	2	2	О	100	65
	1б	2	1	0	3	2	2	О	100	

Примечание: О-отлично, Х-хорошо, С-среднее, Уд-удовлетворительно, Σ-суммарный спектр.

Все четыре сорта имеют индивидуальные, чётко отличимые спектры глиадина, что облегчает их идентификацию. Три сорта (Ариадна, Богданка, Уни-1) являются мономорфными (представлены только одним биотипом), а Синтетик – полиморфный (состоит из 2-х биотипов). Примеси выявлены только у Синтетика (3 %) и Богданки (5%). В настоящее время 95%-й уровень сортовой чистоты, определяемый электрофорезом, является допустимым [9].

Эталонные спектры электрофореграмм глиадинов сортов озимых пшениц и тритикале селекции СДГСХОС-ДЗНИИСХ, с которыми в 2008 году велось семеноводство, приведены в таблицах 2 и 3.

Как видно из таблицы 2, все сорта озимой пшеницы имеют индивидуальные спектры

глиадинов, хотя некоторые из биотипов разных сортов очень похожи: Губернатор Дона (1б)-Северодонецкая юбилейная (1б)-Тарасовская остистая (1б). Однако, с учётом внутрисортного полиморфизма и соотношения биотипов, эти сорта всё же отличимы. Самый полиморфный сорт – Северодонецкая 5 (4 биотипа), мономорфны – Тарасовская 87, Северодонецкая юбилейная и Губернатор Дона. Остальные сорта (Августа, Престиж, Росинка тарасовская и Тарасовская остистая) состоят из 2 биотипов. Характерным для всех сортов является то, что они отличаются высоким генетическим уровнем качества (50–60 мл по седиментации) и повышенной морозостойкостью. Примеси (1%) выявлены только у двух сортов (Августа и Тарасовская остистая).

2. Эталонные спектры коммерческих сортов озимых мягких пшениц СДГСХОС-ДЗНИИСХ (2008 г.)

Сорт	Био-тип	Глиадин							%	SDS Седиментация, мл
		1A	1B	1D	6A	6B	6D	оценка		
Августа	Σ	4	1	$\frac{4+7}{59+40}$	3	2	2	О	100	56
	1б	4	1	4	3	2	2	О	59	
	2б	4	1	7	3	2	2	О	40	
примесь									1	
Губернатор Дона	Σ	4	1	4	3	2	2	О	100	52
	1б	4	1	4	3	2	2	О	100	
Престиж	Σ	4	1	$\frac{7+1}{55+45}$	3	1	1	Х++	100	52
	1б	4	1	7	3	1	1	Х++	55	
	2б	4	1	1	3	1	1	Х+	45	
Росинка тарасовская	Σ	5	1	$\frac{7+2}{65+35}$	3	1	2	О	100	51
	1б	5	1	7	3	1	2	О	65	

	2б	5	1	2	3	1	2	X+	35	
Северодонецкая юбилейная	Σ	4	1	4	3	1	2	O	100	54
	1б	4	1	4	3	1	2	O	100	
Тарасовская 87	Σ	4	4	5	1	1	1	X+	100	51
	1б	4	4	5	1	1	1	X+	100	
Тарасовская остистая	Σ	4	1	4	3	2	$\frac{2+1}{40+60}$	O	100	53
	1б	4	1	4	3	2	2	O	40	
	2б	4	1	4	3	2	1	X++	59	
	примесь								1	
Северодонецкая 5	Σ	$\frac{5+4}{65+35}$	1	$\frac{1+7}{70+30}$	$\frac{3+1}{93+7}$	1	$\frac{2+1}{93+7}$	X++	100	50
	1б	5	1	1	3	1	2	X++	65	
	2б	4	1	7	3	1	2	O	23	
	3б	4	1	7	1	1	1	X+	7	
	4б	4	1	1	3	1	2	X++	5	

3. Эталонные спектры коммерческих сортов тритикале СДГСХОС-ДЗНИИСХ (2008 г.)

Сорт, линия	Биотип	Глиадин							%	SDS Седиментация, мл
		1A	1B	1D	6A	6B	6D	оценка		
AD-Тарасовский	Σ	$\frac{2+1}{75+20}$	$\frac{3R1+3R}{43+32}$	-	$\frac{2+1}{75+20}$	$\frac{3+1}{75+20}$	-	-	100	40
	1б	2	3R	-	2	3	-	-	32	
	2б	2	3R1	-	2	3	-	-	43	
	3б	1	3R3	-	1	1	-	-	20	
	примесь								5	
ТИ-17	Σ	2	$\frac{3+32}{48+47}$	-	1	2	-	-	100	36
	1б	2	3	-	1	2	-	-	48	
	2б	2	3R1	-	1	2	-	-	47	
	примесь								5	
Каприз	Σ	$\frac{6+2}{50+46}$	$\frac{3R2+3}{53+46}$	-	1	$\frac{4+2}{53+43}$	-	-	100	36
	1б	6	3R2	-	1	4	-	-	30	
	2б	6	3	-	1	2	-	-	20	
	3б	2	3R2	-	1	2	-	-	23	
	4б	2	3	-	1	4	-	-	23	
	примесь								4	
Каприз (линия)	Σ	2	3	-	1	4	-	-	100	36
	1б	2	3	-	1	4	-	-	100	
	1б	4	3R4	-	3Г	5	-	-	48	
	2б	2R	3R4	-	3Г	5	-	-	52	
Кентавр (линия)	Σ	4	3R4	-	3Г	5	-	-	100	36
	1б	4	3R4	-	3Г	5	-	-	98	
	примесь								2	
Тарасовский юбилейный	Σ	6R	3R4	-	2	1	-	-	100	40
	1б	6R	3R4	-	2	1	-	-	100	

Данные таблицы 3 свидетельствуют о том, что сорта озимых тритикале отличаются от сортов озимых мягких пшениц тем, что у них нет D-гена как у озимых твердых пшениц

(табл. 5). Поэтому на спектре глиадины мы не видим компонентов, контролируемых локусами 1D и 6D хромосом. Однако у твёрдых пшениц и тритикале компоненты Гли 1В хромосомы принципиально различаются. У тритикале они происходят от ржи, а у твёрдых – от пшениц и её сородичей. Как показали исследования А. И. Рыбалка и др.[10], основной причиной негативного влияния клейковинных белков ржи секалинов на хлебопекарные свойства муки пшеницы и тритикале является их большая растворимость в воде. Вместе с тем, благодаря секалинам ржи, тритикале значительно более морозостойкая, чем озимая твёрдая пшеница и даже мягкая (с D-геномом).

Почти все сорта тритикале, кроме Тарасовской юбилейной, по глиадидам полиморфны (2–4 биотипа), в то же время выделенные из сортов Каприз и Кентавр линии мономорфны (настоящие линии). Каждый из сортов тритикале отличим по глиадидам, хотя отдельные биотипы различных сортов бывают схожими. Примеси встречаются как в сортах, так и в линиях.

Эталонные спектры электрофореграмм глиадинов сортов озимых мягких и твёрдых пшениц селекции ВНИИЗК, с которыми в 2008

году велось семеноводство, приведены в таблицах 4 и 5.

Из таблицы 4 видно, что сорта озимых пшениц селекции ВНИИЗК тоже преимущественно полиморфны по глиадидам кроме Конкурента и Памяти Калининко. Количество биотипов в сортах колеблется от 2 до 4. В двух сортах выявлены примеси (Станичная – 1%, Ростовчанка 3 – 1%). Все сорта отличимы по электрофореграммам глиадины между собой и в сравнении с сортами СДГСХОС-ДЗНИИСХ и БелНИИСХ. В сортах ВНИИЗК преобладают аллели Гли 1А3, 1D7, а там их почти нет. Характерным для всех сортов озимых мягких пшениц селекции ВНИИЗК является то, что они отличаются высоким генетическим уровнем качества (Х-О, или 46–54 мл), а также повышенной морозостойкостью (Гли 1D7, 1D4, 6A3, 6D2).

Из таблицы 5 видно, сорта озимых твёрдых пшениц преимущественно мономорфны (кроме Донского янтаря-2 биотипа). Каждый сорт индивидуален по глиадидам и хорошо отличим. Примесь выявлена только в одном сорте Терра. Более высоким качеством клейковинных белков отличаются новые сорта Аксинит и Терра (40–38 мл).

4. Эталонные спектры коммерческих сортов озимых мягких пшениц ВНИИЗК (2008 г.)

Сорт	Био-тип	Глиадин							%	SDS Седиментация, мл
		1А	1В	1D	6А	6В	6D	оценка		
Ермак	Σ	3	1	$\frac{7+1}{57+43}$	3	1	2	О	100	50
	1б	3	1	7	3	1	2	О	57	
	2б	3	1	1	3	1	2	X+	43	
Станичная	Σ	4	1	4	1	1	1	X+	100	52
	1б	4	1	4	1	1	1	X+	99	
	примесь								1	
Ростовчанка 3	Σ	$\frac{12+5}{64+35}$	1	7	$\frac{3+1}{67+30}$	1	1	X+	100	51
	1б	12	1	7	3	1	1	X++	47	
	2б	5	1	7	3	1	1	X++	15	
	3б	12	1	7	1	1	1	X+	26	
	4б	5	1	7	1	1	1	X+	12	
примесь								1		
Донской сюрприз	Σ	$\frac{12+4}{92+8}$	1	7	1	1	1	X+	100	50
	1б	12	1	7	1	1	1	X+	92	
	2б	4	1	7	1	1	1	X+	8	
Донской маяк	Σ	3	1	7	$\frac{3+1}{44+56}$	1	$\frac{2+1}{44+56}$	X++	100	54
	1б	3	1	7	3	1	2	О	44	

	2б	3	1	7	1	1	1	X+	56	
Дон-95	Σ	3	1	$\frac{1+7}{77+23}$	$\frac{1+3}{75+25}$	1	$\frac{1+2}{75+25}$	X++	100	55
	1б	3	1	1	1	1	1	X	61	
	2б	3	1	1	3	1	2	X+	16	
	3б	3	1	7	1	1	1	X+	14	
Конкурент	4б	3	1	7	3	1	2	O	9	
	Σ	4	1	7	1	1	1	X+	100	
Памяти Калиненко	1б	4	1	7	1	1	1	X+	100	
	Σ	3	1	1	1	1	1	X	100	46
Гарант	1б	3	1	1	1	1	1	X	100	
	Σ	5	1	7	$\frac{3+1}{43+57}$	1	1	X+	100	50
	1б	5	1	7	3	1	1	X++	43	
	2б	5	1	7	1	1	1	X+	57	

5. Эталонные спектры коммерческих сортов озимых твёрдых пшениц (2008 г.)

Сорт	Био-тип	Глиадин						%	SDS Седиментация, мл
		1A	1B	1D	6A	6B	6D		
Гелиос	Σ	13х	4г	-	3г	1	-	100	27
	1б	13х	4г	-	3г	1	-	100	
Терра	Σ	10	6г	-	3г	1	-	100	38
	1б	10	6г	-	3г	1	-	98	
	примесь							2	
Аксинит	Σ	10	1	-	4г	2	-	100	40
	1б	10	1	-	4г	2	-	100	
Донской янтарь	Σ	4	$\frac{1+2}{60+40}$	-	3г	3	-	100	30
	1б	4	1	-	3г	3	-	60	
	2б	4	2	-	3г	3	-	40	

ВЫВОДЫ

Приведенные данные убедительно свидетельствуют о высокой информативности электрофореза проламинов как метода лабораторного контроля подлинности и чистоты семян. Каждый из изучаемых сортов мягкой, твёрдой пшениц и тритикале, с которыми ведется в настоящее время семеноводство, имеют индивидуальный суммарный спектр проламинов, что очень важно в сортовой идентификации элитных и репродукционных семян. Более того, знание биотипного состава сорта по проламинам зерен еще более усиливает эти возможности, дает представление о примесях и чистосортности. Все это говорит о высокой надежности и эффективности использования электрофореграмм проламинов в лабораторном сортовом контроле, предусмотренном Феде-

ральным законом «О семеноводстве» (Статья 26), в комплексе с апробацией и грунтовым контролем. Метод не имеет сезонного характера, результаты анализа можно получить уже на третий день, поэтому он может быть рекомендован к широкому применению для идентификации сортов и соответствия их эталонным образцам на всех этапах производства семян.

ЛИТЕРАТУРА

1. Созинов А. А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции /А.А. Созинов. – М.: Наука, 1985. – 272 с.
2. Сортовой состав с.-х. культур, рекомендованных для возделывания в Ростовской области на 2008 год. – Ростов н/Д, 2008. – 100 с.
3. Инструкция по проведению апробации сортовых посевов. М.: Колос, 1965. – 232 с.

4. Конарев В. Г. Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений/В.Г. Конарев. – СПб.: ВИР, 2001. 417 с.
5. Созинов А. А. Генетически обусловленные различия компонентного состава глиаина сортов Безостая 1 и Днепроvская 521 и их роль в определении качества муки / А.А. Созинов, Ф.А. Попереля, М.М. Копусь // Докл. ВАСХНИЛ. – 1975. – №11. – С.10–14.
6. Методика проведения лабораторного сортового контроля по группам сельскохозяйственных растений. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2004. – 96 с.
7. Копусь М. М. Исследование полиморфизма глиаина методом электрофореза в крахмальном геле / М.М. Копусь.– Ростов н/Д: 1988. – 34 с.
8. Копусь М. М. Генетический полиморфизм проламинов зерна в селекции пшеницы и тритикале / М.М. Копусь, А.И. Грабовец, А.В. Крохмаль, М.А. Фоменко // Тритикале России. – Ростов н/Д, 2008. – С. 54–62.
9. Поморцев А.А. Электрофорез запасных белков как метод сортового контроля у ярового ячменя / А.А. Поморцев, Е.В. Лялина, Л.А. Животовский, Б.А. Калабушкин, В.А. Пухальский // Селекция и семеноводство. – 2004. – №3. – С. 20–28.
10. Рыбалка А. И. Генетический полиморфизм клейковинных белков зерна, определяющих качество муки пшеницы: методы идентификации / А.И. Рыбалка, М.В. Червонис, З.В. Щербина // Збірник наукових праць. Одеса: СГІ – НЦИС, 2007. – С. 52–71.