

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

СОКОЛЬЧИК
Дарья Александровна

СОЗДАНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
ЛИНИЙ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ТРИТИКАЛЕ
(X *TRITICOSECALE* WITTM.)

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент В.А. Лемеш

Минск, 2014

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 91 с., 108 рис., 14 табл., 64 источников, 3 прил.

Тритикале, культура пыльников, андрогенез, ДН-линии, полиморфизм, гомозиготность, соматическая изменчивость, ISSR-PCR.

Объект исследования: пять комбинаций гибридов первого поколения гексаплоидного тритикале, 42 удвоенных гаплоида тритикале.

Цель: анализ отзывчивости гибридов гексаплоидного тритикале (*x Triticosecale* Wittm.) в культуре пыльников *in vitro*, а также определение внутри- и межлинейного полиморфизма линий удвоенных гаплоидов при помощи ISSR-анализа.

Методы исследования: биотехнологические (метод культуры пыльников *in vitro*), молекулярно-генетические методы (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, ISSR-анализ, электрофорез в горизонтальном агарозном геле), статистические.

Все исследованные гибриды проявили способность к индукции пыльцевого эмбриогенеза. Вариабельность по способности к новообразованию составила от 7,64% (гибрид Г-1837) до 23,13% (гибрид Г-1822) каллусов и эмбриоидов на 100 пыльников. Среднее значение по данному признаку – 15,0%. Наибольшим выходом растений-регенерантов характеризовался гибрид Г-1822 (5,48%). Наибольшую частоту регенерации зеленых растений показал гибрид Г-1832 (15,46%). Формирование растений-регенерантов начиналось на 3-15 день после переноса полученного каллуса на регенерационную среду. Наибольший выход зеленых растений на регенерационной среде наблюдался на 40-45 дни после посадки пыльников (выход зеленых растений 16,3%). Средняя регенерационная способность всех новообразований составила 12,4%.

В ходе ISSR-анализа с маркерами UBC811, UBC808, UBC856, UBC807, ISSR2 и ISSR17 проанализировано по шесть индивидуальных растений 42 ДН-линий тритикале. Для изученных нами генотипов данные маркеры проявили себя как высокоинформативные: варьирование генетического полиморфизма в зависимости от праймера составило от 50,0 до 100,0%. Выявлено 23 ДН-линии, характеризующиеся внутрилинейным полиморфизмом. Проведен анализ на межлинейный полиморфизм. Для каждого маркера выявлено определенное количество мономорфных групп. Наименее полиморфным оказался маркер ISSR2 (две мономорфные группы). Наиболее полиморфным оказался маркер UBC807 (семь мономорфных групп). Выявлено два кластера ДН-линий, характеризующиеся наиболее генетически отдаленным родством.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 91 с., 108 рыс., 14 табл., 64 крыніцы, 3 дад.

Трыцікале, культура пылавікоў, андрагенез, ДН-лініі, палімарфізм, гомазіготнасць, самакланальная зменлівасць, ISSR-PCR.

Аб'ект даследвання: пяць камбінацый гібрыдаў першага пакалення гексаплоіднага трыцікале, 42 падвоеных гаплоіда трыцікале.

Мэта: аналіз спагадлівасці гібрыдаў гексаплоіднага трыцікале (х *Triticosecale* Wittm.) у культуры пылавікоў *in vitro*, а таксама вызначэнне унутры- і міжлінейнага палімарфізму ліній падвоеных гаплоідаў пры дапамозе ISSR-аналізу.

Метады даследвання: біятэхналагічныя (метады культуры пылавікоў *in vitro*), малекулярна-генетычныя метады (вылучэнне ДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, ISSR-аналіз, электрофарэз ў гарызантальным агаравым гелі), статыстычныя.

Усе даследаваныя гібрыды праявілі здольнасць да індукцыі пылковага эмбрыягенезу. Варыябельнасць па здольнасці да новатварэнняў складала ад 7,64% (гібрыд Г-1837) да 23,13% (гібрыд Г-1822) каллусаў і эмбрыёідаў на 100 пылавікоў. Сярэдняе значэнне па дадзенай прыкмеце – 15,0%. Найбольшым выхадам раслін-рэгенерантаў характарызаваўся гібрыд Г-1822 (5,48%). Найбольшую частату рэгенерацыі зялёных раслін паказаў гібрыд Г-1832 (15,46%). Фарміраванне раслін-рэгенерантаў пачыналася на 3-15 дзень пасля пераносу новатварэнняў на рэгенерацыйным асяроддзі. Найбольшы выхад зялёных раслін на рэгенерацыйным асяроддзі назіраўся на 40-45 дні пасля пасадкі пылавікоў (выхад зялёных раслін 16,3%). Сярэдняя рэгенерацыйная здольнасць усіх новаўтварэнняў складала 12,4%.

У ходзе ISSR-аналізу з маркерамі UBC811, UBC808, UBC856, UBC807, ISSR2 і ISSR17 прааналізавана па шэсць індывідуальных раслін 42 ДН-ліній трыцікале. Для вывучаных намі генатыпаў прывезденыя маркеры праявілі сябе як высокаінфарматыўныя: вар'іраванне генетычнага палімарфізму ў залежнасці ад праймера складала ад 50,0 да 100,0%. Выяўлена 23 ДН-лініі, якія характарызуюцца ўнутрылінейным палімарфізмам. Праведзен аналіз на міжлінейны палімарфізм. Для кожнага маркера выяўлена пэўная колькасць монаморфных груп. Найменш паліморфным апынуўся маркер ISSR2 (дзве монаморфныя групы). Найбольш паліморфным апынуўся маркер UBC807 (сем монаморфных груп).

Выяўлена два кластары ДН-ліній, якія характарызуюцца найбольш генетычна аддаленым радствам.

ABSTRACT

Diploma work 91 p., 108 fig., 14 tables, 64 sources, 3 appl.

Triticale, anther culture, androgenesis, DH-lines, polymorphism, homozygosity, somaclonal variability, ISSR-PCR.

Object of research: five combinations of first-generation hybrids of hexaploid triticale, 42 double haploid triticale.

Aim of work: responsiveness analysis of hexaploid triticale hybrids (x *Triticosecale* Wittm.) in anther culture *in vitro*, as well as the definition of intra- and interline polymorphism of doubled haploid lines' using ISSR-analysis.

Research methods: biotechnological (method of anther culture *in vitro*), molecular genetic techniques (DNA extraction, polymerase chain reaction, ISSR-analysis, electrophoresis in horizontal agarose gel), statistics.

All investigated hybrids have showed ability to induce pollen embryogenesis. The ability to variability of neoplastic ranged from 7,64% (hybrid G-1837) to 23,13% (hybrid G-1822) calli and embryos per 100 anthers. The average value for a given trait is 15,0%. The highest yield of regenerated plants has been characterized by a hybrid T-1822 (5,48%). The highest green plants' regeneration has been showed by a hybrid G-1832 (15,46%). Formation of regenerated plants has begun at 3-15 days after transfer to regeneration medium. The highest yield of green plant on the regeneration medium has been observed at 40-45 days after anthers plantings (yield of green plants 16,3%). Average regenerative capacity of all embryos and calli has been 12,4%.

During ISSR-analysis with markers UBC811, UBC808, UBC856, UBC807, ISSR2 ISSR17 six individual plants 42 DH-triticale lines has been analyzed. For the studied genotypes of these markers have proven to be highly informative: genetic polymorphism variation depending on the primer ranged from 50,0 to 100,0%. There has been revealed 23 DH-lines characterized with intraline polymorphism. The analysis on interlinear polymorphism has been done. A certain number of monomorphic bands have been revealed for each marker. Marker ISSR2 (two monomorphic groups) has turned as the least polymorphic. Marker UBC807 (seven monomorphic groups) has turned as the most polymorphic.

Two of the most genetically diverse DH-lines cluster has been identified. It is characterized by a distant kinship.