

УДК: 575.633.11.

К.К. Шулембаева*, С.Б. Даулетбаева, Ж.Ж. Чунетова, А.А. Токубаева,
Н.Ж. Омирбекова, Ж.К. Жунусбаева

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, факультет биологии и биотехнологии,
Казахстан, г. Алматы

*E-mail: Kulziya.Shulembaeva@kaznu.kz

Использование генетических методов в селекции пшеницы

Повышение урожайности пшеницы путем улучшения ее генотипа – одна из актуальных проблем сельского хозяйства. В настоящее время с использованием традиционных методов селекционно-генетических исследований, таких, как беккроссная селекция, отдаленная гибридизация, экспериментальный мутагенез, повышается результативность получения генетически измененных и улучшенных форм пшеницы.

Высокое содержание моно фосфора (H_3PO_4 5%) приводит к слабому мутагенному эффекту, а его 0,1% концентрация способствует развитию биомассы растений. Уровень фертильности гибридов мягкой пшеницы с дикими видами (*t. timopheevii*, *t. dicossum* и *t. kiharae*) зависит от направления скрещиваний и генотипа сорта. Дикие виды в качестве материнского компонента благоприятно влияют на высокий процент завязывания зерен. Геном сорта Надежда высокосовместим с геномами диких видов по сравнению с другими сортами пшеницы.

Ключевые слова: мутагенез, изогенные линии, замещенные линии пшеницы, селекция, отдаленная гибридизация.

К.К. Шулембаева, С.Б. Даулетбаева, Ж.Ж. Чунетова, А.А. Токубаева,
Н.Ж. Омирбекова, Ж.К. Жунусбаева

Бидай селекциясында генетикалық әдістерді пайдалану

Беккросс тәсілімен алынған үш - ИЛ-Нг, ИЛ-ВгНг и ИЛ-Рс изогенді линияларға жүргізген сандық белгілерінен құрылымдық анализ, олардың бақылау сортымен салыстырғанда өнімділік параметрлерінің – бас масақтағы дәндер салмағынан, 1000 дәндер салмағынан жоғары болғандығы сенімді анықталды. Моно фосфордың (H_3PO_4) 0,1% жоғарғы концентрациясы өсімдіктердің биомассасының жоғарылауына әкеліп, әлсіз мутагендік әсер көрсетті; жұмсақ бидайды *t. timopheevii*, *t. dicossum*, *t. kiharae* түрлерімен будандастырған кездегі гибридтердің фертильділігі шағылыстыру бағытына және сорттың генотипіне тәуелді екендігі анықталды;

Түйін сөздер: мутагенез, бидайдың изогенді және алмасқан линиялары, селекция, алшақ будандастыру.

K. Shulembaeva, S. Dauletbaeva, Zh. Chunetova, A. Tokubayeva,
N. Omirbekova, Zh. Zhunusbaeva

Use of genetic methods in wheat of breeding

Increase wheat yields by improving its genotype - one of the most urgent problems of the rural economy. At present, using traditional methods of selection and genetic studies, such as backcross selection, distant hybridization, experimental mutagenesis, increased efficiency of obtaining genetically modified and improved forms of wheat.

The high content of mono phosphorus (H_3PO_4 5%) leads to a weak mutagenic effect, and its 0.1% concentration promotes the development of plants biomass. Fertility rates of soft wheat hybrids with wild

species (*T. timopheevii*, *T. dicoccum* and *T. kiharae*) depends on the direction of crossing and genotypes of varieties. Wild species as the parent component positively affect the high percentage of grain fertility. Genome of Nadezhda variety is compatible with genomes of wild species.

Keywords: Induced mutagenesis, isogenic, substituted lines of wheat, distant and intraspecific hybridization in soft bread wheat

Введение

Использование индуцированного мутагенеза показало высокую эффективность по получению форм с измененной высотой растений: карликов, низкорослых и высокорослых мутантов [1]. Известно, что при оптимальном сочетании мутагена, его доз и исходного сорта мягкой озимой пшеницы было выделено значительное количество мутантов, устойчивых к бурой ржавчине до 12% по отношению ко всем выделенным мутантам. Эти мутантные формы устойчивы к двум или нескольким фитопатогенам. На этом фоне обнаружены другие ценные мутантные признаки: высокое адаптивное свойство, высокий урожай, высокое хлебопекарное качество, устойчивость к полеганию [2].

Одним из основных методов создания новых сортов, обладающих хозяйственно-ценными признаками, и в первую очередь, в направлении селекции на устойчивость к болезням ржавчины пшеницы, является отдаленная гибридизация. При межвидовой гибридизации в селекции пшеницы на устойчивости к листовой ржавчине активно используют полбу, тургидум, пшеницу рода *T. Timopheevii* [3]. Для устранения эффекта стерильности гибридов, к настоящему времени разработаны методы, облегчающие перенос генов от отдаленных видов пшеницы. Одни из них основаны на методах хромосомной инженерии, другие – на методах генетического контроля мейотической рекомбинации, третьи – на методах генной инженерии.

Целью работы является получение мутантов с хозяйственно-ценными признаками, отдаленных и внутривидовых гибридов пшеницы и их селекционно-генетический анализ.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили сорт яровой мягкой пшеницы Казахстанская 126 (*Triticum aestivum* L. var. *ferrugineum* Al.) и серия моносомных линий сорта Казахстанская 126. Сорта Надежда, Казахстанская 4 и Шагала.

Сорт Казахстанская 126 выведен в Казахском научно-исследовательском институте земледелия Н.Л. Удольской путем скрещивания мягкой

пшеницы Лютесценс 47 с местным сортом карликовой пшеницы Кожебидай и последующего двухкратного отбора. Также, изогенные линии сорта Avocet по *Yr* генам, вид *T. timopheevii*.

Результаты исследований и их обсуждение

В ходе данного исследования произведена обработка семян пшеницы районированных сортов Надежда и Казахстанская 126 химическим соединением – фосфорной кислотой (H_3PO_4) в 5-10% концентрациях водного вещества. Для этого выбраны различные концентрации раствора фосфорной кислоты: 0,01; 0,1 и 0,5%. Затем семена пшеницы сортов выдерживались в растворе соответствующих концентраций. Сравнительное изучение влияния различных концентраций фосфорной кислоты показало, что высокое содержание химического соединения – 5%, установлено как оптимальная концентрация данного вещества по изучению онтогенеза и активности деления клеток корневой зародышевой меристемы пшеницы. Влияние химических соединений изучалось ранее в исследованиях различного направления. Однако генетические основы изменения и реакция растений на действие этих соединений не изучены. Ниже приводятся данные по изучению реакции обработанных семян в лабораторных условиях (таблица 1).

Обработанные семена высевались в посевах опытных участков. Фенологическое наблюдение показало, что высокое содержание монофосфора (5%) приводит к слабому мутагенному эффекту, а его 0,1% концентрация способствует развитию биомассы. Слабый мутагенный эффект 5% концентрации, по-видимому, связан с сильным подкислением реакции pH среды. Это доказано некоторыми абберациями хромосом в митозе и нарушениями мейоза у растений, обработанных H_3PO_4 . Митоз у мутантных растений сопровождалось массовым слипанием хромосом (пикноз), смещением веретена деления метафазной пластинки.

Мутагенный эффект и его важность в селекции определяются результатами митотической активности и характера аббераций в делении клетки. Они позволяют определить степень из-

Таблица 1 – Изучение активности деления клеток и абберации в анафазе митоза

Мутаген и его концентрация, %	Всего просмотренных клеток	Абберации	Средний процент нарушенных клеток
Казахстанская 126			
Контроль	750	5	0,66±0,01
H ₃ PO ₄ 0,1%	750	8	1,00±0,01
H ₃ PO ₄ 0,01%	750	11	1,40±0,01
H ₃ PO ₄ 0,5%	750	29	3,80±0,40
Надежда			
Контроль	750	3	0,40±0,01
H ₃ PO ₄ 0,1%	750	14	1,86±0,02
H ₃ PO ₄ 0,01%	750	17	2,26±0,01
H ₃ PO ₄ 0,5%	750	37	4,9±0,04

менчивости у растений, полученных действием химических и физических факторов. Изучена индукция определенной концентрации фосфорной кислоты (5%) на всхожесть семян, активность деления клеток и абберации в митозе мериستمатической клетки опытных вариантов по сравнению с контрольным вариантом, полученным с помощью действия H₃PO₄.

Действие различной концентрации химического соединения (H₃PO₄) наблюдали в онтогенезе растений. Так, 0,1% концентрации H₃PO₄ оказывает незначительное отклонение (1,00±0,01) на нормальный ход митоза в сравнении с контролем (0,66±0,01).

Проведенный структурный анализ элементов продуктивности изогенных линий позволил выделить три линии – ИЛ-Нг, ИЛ-ВгНг и ИЛ-Рс, отличающиеся достоверным превышением показателей продуктивности колоса и массы 1000 зерен в сравнении с контрольным сортом Казахстанская 126 и другими линиями (таблица 2).

Изогенная линия ИЛ-Нг с опушенным колосом морфологически хорошо тестируется в период колошения и имеет более насыщенный

цвет колосковой чешуи по сравнению с контролем. Показатели продуктивности колоса и масса 1000 зерен линии ИЛ-Нг достоверно превышают значения контрольного сорта (таблица 2). Длина колоса в среднем составила 13,0±0,2 см. с числом колосков 20,0±0,4. Количество зерен в главном колосе 63,2±1,0 шт. с массой 2,9±0,1 г. Зерно средней крупности, овальное с неглубокой бороздкой. Среднее значение массы 1000 зерен составило 48,1±1,4 г. в сравнении с контролем – 44,7±0,7 г.

Изогенная линия ИЛ-ВгНг имеет опушенный, черный колос. Средний показатель длины колоса линии ИЛ-ВгНг составил 13,1±0,1 см. Количество колосков в среднем 20,0±0,1 шт. с числом зерен 65,4±0,2 шт., что достоверно превышает контроль. Зерно средней крупности, бороздка не глубокая. Масса 1000 зерен линии ИЛ-ВгНг значительно превысила показатели контроля и составила 49,7±0,3 г (P<0,001).

Наблюдаемое превышение показателей продуктивности колоса у линий ИЛ-ВгНг и ИЛ-Нг возможно обусловлено наличием доминантного аллеля опушения колосковой чешуи *Hg* у этих линий.

Таблица 2 – Элементы продуктивности колоса морфологически маркированных изогенных линий

Сорт / линии	Продуктивность главного колоса				
	длина колоса, см	число колосков, шт.	число зерен, шт.	масса зерна, г.	масса 1000 зерен, г.
К. 126	12,2±0,1	19,0±0,3	51,7±1,6	2,4±0,1	44,7±0,7
ИЛ-Нг	13,0±0,2***	20,0±0,4**	63,2±1,0***	2,9±0,1***	48,1±1,4**
ИЛ-Рс	12,5±0,5	19,6±0,2	63,2±1,0***	2,7±0,1*	48,4±0,6***
ИЛ-ВгНг	13,1±0,1***	20,0±0,1***	65,4±0,2***	3,0±0,1***	49,7±0,3***
Отличие от контроля достоверно при * P<0,05 ** P<0,01 *** P<0,001					

Изогенная линия ИЛ-Рс характеризуется пурпурной окраской соломины. Длина колоса линии ИЛ-Рс в среднем – $12,5 \pm 0,5$ см. Количество колосков составило $19,6 \pm 0,2$ шт., число зерен – $63,2 \pm 1,0$ шт. Вес зерна с главного колоса в среднем – $2,7 \pm 0,1$ г. Зерно крупное с выполненной бороздкой. Масса 1000 зерен у линии ИЛ-Рс составила $48,4 \pm 0,6$ г, различие достоверно при $P < 0,001$ (таблица 2).

Увеличение среднего веса зерна у изогенной линии ИЛ-Рс подтверждается улучшением налива зерна. Это, возможно, связано с повышением продуктивности фотосинтеза, обусловленного интенсификацией этого процесса у антоцианосодержащих растений.

Ранее нами с использованием в качестве мутагена 0,01% водного раствора хлористого кадмия на сорта Казахстанская 3 и Шагала отобраны мутантные линии – Л1, Л2 и Л3. Мутантные формы обладают длинными колосьями, удлинённой колосковой чешуей, стекловидным крупным зерном, антоциановой окраской стебля и ушек пазухи листьев, а также высокой массой 1000 зерен. Ряд линий были более высокой и толстой соломиной, утолщением и удлинением стеблевых узлов, повышенной продуктивной кустистостью. Перечисленные селекционно-важные признаки мутантных форм, стойко наследовались от поколения в поколение (М1-М6). В связи с этим одной из задач данного исследования является локализация генов, ответственных за хозяйственно-ценные признаки мутантных форм. Известно, что удлинение колосковой чешуи колоса положительно коррелирует с удлинением зерна. Это обстоятельство является прямым доказательством высокой продуктивности колоса мутантной формы Л1. В естественных условиях при внутривидовой гибридизации получить такие формы удается редко. Поэтому прежде чем использовать мутанта в целях гибридизации, необходимо была генетически изучить это свойство пшеницы с использованием метода хромосомной инженерии. Для осуществления данной работы получены семена гибридов F_1 с использованием моносомных линий сорта Казахстанская 126 в количестве 22 комбинации скрещивания. Сравнительный моносомный анализ гибридов по признаку удлинения колосковой чешуи будет проведено исследованием потомства F_1 при получении урожая 2013 года. В процессе выполнения этой работы необходимым

условием было идентификация моносомных и дисомных растений сорта Казахстанская 126. Для этого был проведен цитологический анализ мейоза у 410 растений и проанализировано 10050 клеток моносомных гибридов. В результате, были отобраны подлинны моносомы и использованы для гибридизации.

Межвидовая гибридизация. Тетраплоидный эндемичный вид *Triticum timopheevii* Zhuk. (геномная формула A^1A^1GG) характеризуется уникальным пулом генов, контролирующим устойчивость ко многим заболеваниям пшеницы. Создание и интенсивное вовлечение в селекционный процесс доноров мягкой пшеницы с эффективными Lr-генами устойчивости, переданными от дикорастущих сородичей, могло бы значительно расширить ее генетическую основу по тем или другим хозяйственно-ценным признакам. Однако, несмотря на определенные трудности (стерильность гибридов и цитологическая нестабильность), в литературе имеются сведения о переносе ряда генов устойчивых к бурой стеблевой ржавчине, мучнистой росе от *T. timopheevii* к мягкой пшенице. Имеющиеся в литературе сведения о совместимости видов *T. aestivum* и *T. timopheevii* противоречивы. В различных почвенно-климатических условиях России и за рубежом в гибридизацию вовлекался разнообразный материал исходных родительских видов. Противоречивость результатов объясняли как генетическими особенностями родительских форм, так и своеобразием конкретных экологических зон [3, 4].

Использование твелл-метода способствовало резкому увеличению объемов и повышению качества опыления, а в целом – гибридизации. Высокая производительность опыления (до 90 колосьев в час) нативной пылью обусловила возможность анализа собственно совместимости исходных родительских форм. В скрещивание привлекались дикие сородичи зерновых культур. В таблице 3 приведены результаты межвидовой гибридизации.

Гибриды с *t. timopheevii*. Приведенные в таблице 3 экспериментальные данные говорят о том, что скрещивание мягкой пшеницы с различными видами диких культур были результативными. Однако завязывание зерен в разных комбинациях варьирует от 0 до 64,18%. Повидимому, процент удачи зависит от генотипа сортообразцов, взятых для скрещивания, а также от направления скрещивания.

Таблица 3 – Фертильность реципрокных гибридов отдаленной гибридизации

№	Комбинация скрещивания	Количество		Процент, завязывания зерен, %
		опыленных цветков	завязавшихся зерен	
<i>Мягкая пшеница x T.timopheevi</i>				
1	F ₀ (<i>t.timopheevi</i> x Надежда)	190	119	62,63
2	F ₀ (Надежда x <i>t.timopheevi</i>)	72	11	15,28
3	F ₀ (<i>t.timopheevi</i> x к-2780)	150	61	40,67
4	F ₀ (к-2780 x <i>t.timopheevi</i>)	56	6	10
5	F ₀ (32 коротст. x <i>t.timopheevi</i>)	56	0	0
<i>Мягкая пшеница x T.dicocum</i>				
1	F ₀ (<i>t.dicocum</i> x Надежда)	282	181	64,18
2	F ₀ (Надежда. x <i>t.dicocum</i>)	156	41	26,28
3	F ₀ (<i>t.dicocum</i> x к-2780)	150	71	47,33
4	F ₀ (к-2780 x <i>t.dicocum</i>)	130	14	10,77
5	F ₀ (<i>t.dicocum</i> x 32 коротст.)	32	17	53,12
6	F ₀ (32 коротст. x <i>t.kiharae</i>)	33	0	0
<i>Мягкая пшеница x T.kiharae</i>				
1	F ₀ (<i>t.kiharae</i> x Иммунная1498)	84	34	40,47
2	F ₀ (Иммунная1498 x <i>t.kiharae</i>)	108	12	11,11
3	F ₀ (<i>t.kiharae</i> x к-2780)	32	17	53,12
4	F ₀ (к-2780 x <i>t.kiharae</i>)	102	17	16,66
7	F ₀ (<i>t.kiharae</i> x Надежда)	50	29	58
8	F ₀ (Надежда x <i>t.kiharae</i>)	52	10	19,23

Так, процент удачи *t. timopheevii* с мягкой пшеницы относительно высок в том случае, когда в качестве материнской формой берется дикая форма.

Уровень совместимости *t. timopheevii* с мягкой пшеницы сорта Надежда относительно высок и в среднем составляет около 62,63%, к-2780 – 40,67%, а в обратном скрещивании процент удачи в гибридном потомстве резко падает 15,28% и 10%, соответственно.

У гибридов F₁ (*t. timopheevi* x к-2780) из 150 – 61%, а в реципрокном скрещивании из 56 опыленных цветков завязалось всего 10% зерна.

Гибриды с *t. dicocum*. Результаты скрещиваемости гибридных потомств F₁ с участием дикого вида *t.dicocum* с мягкой пшеницей была аналогична результатами предыдущих комбинаций, выполненных с *t. timopheevi*.

Гибриды с *t. kiharae*. Гибриды мягкой пшеницы с *t.kiharae*, менее результативные,

чем гибриды с предыдущими комбинациями. Однако и в этом случае наблюдается резкое падение процента удачи по сравнению с теми комбинациями, где материнской формой взята *t.kiharae*. Так, например, процент удачи в прямом скрещивании варьировало от 54,54% до 40,47%, а в обратном – от 28,05% до 8,33%. Такое разнообразие показателей генотип можно объяснить средовыми условиями выращивания растений.

Таким образом, при изучении реципрокных гибридов F₁, полученных от скрещивания мягкой пшеницы с дикими видами - *t. timopheevi*, *t. dicocum*, обнаружены четкие различия по проценту завязываемости зерен. Для гибридов, полученных от скрещивания *t.timopheevi* с мягкой пшеницей, характерно гетероплазматическое состояние: одновременно присутствуют копии дикого (материнского) и пшеничного (отцовского) типов.

Литература

1 Чунетова Ж.Ж. Радиациялық және химиялық мутацияны қолданудың әдістері. – Алматы, 2010. – С. 119.

2 Дунаева М.В., Клячко Н.Л. Сравнительное исследование влияния ПАВ на пшеницу // Физиология растений. – 2002. – Т.39, Вып.1. – С. 151-156.

3 Тимонова Е.М., Леонова И.Н., Белан И.А., Росеева Л.П., Салина Е.А. Влияние отдельных участков хромосом *Triticum Timopheevii* формирование устойчивости к болезням и количественные признаки // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Том 16, № 1. – С. 142-159.

4 Aksyonova E., Sinyavskaya M., Danilenko N. et al. Hetero-plasmy and paternally oriented shift of the organellar DNA composition in barley-wheat hybrids during backcrosses with wheat parents // Genome. – 2005. – Vol. 48. – P. 761–769.

References

1 ChUNETOVA Zh.Zh. Radiacijalyk zhene himijalyk mutacijany koldanudyń edisteri. – Almaty, 2010. – С. 119.

2 Dunaeva M.V., Kljachko N.L. Sravnitel'noe issledovanie vlijaniya PAV na pshenicu // Fiziologija rastenij. – 2002. – Т.39, Вып.1. – С. 151-156.

3 Timonova E.M., Leonova I.N., Belan I.A., Rosseeva L.P., Salina E.A. Vlijanie otdel'nyh uchastkov hromosom *Triticum Timopheevii* formirovanie ustojchivosti k boleznyam i kolichestvennyye priznaki // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii. – 2012. – Том 16, № 1. – С. 142-159.

4 Aksyonova E., Sinyavskaya M., Danilenko N. et al. Hetero-plasmy and paternally oriented shift of the organellar DNA composition in barley-wheat hybrids during backcrosses with wheat parents // Genome. – 2005. – Vol. 48. – P. 761–769.