УДК 581.143.6

МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В СЕВЕРНОМ КАЗАХСТАНЕ

К. А. САГАДИЕВ,
доктор экономических наук,
О. С. ХОРИКОВ,
В. К. ШВИДЧЕНКО,
кандидаты сельскохозяйственных наук
(Северо-Казахстанский селекцентр ВНИИЗХ, Биотехнологический центр ЦСХИ)

Показана возможность использования методов биотехнологии в селекции сортов пшеницы для сухостепной зоны Северного Казахстана. Несмотря на примерно равную селекционную ценность, методы биотехнологии характеризуются и существенными различиями. Глубокое изучение и усовершенствование методов биотехнологии позволит ускорить разработки по фундаментальным и прикладным исследованиям и использовать их для селекции яровой мягкой пшеницы.

В настоящее время одним из основных направлений в селекции является создание методом гибридизации новых сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, сочетающих высокий потенциал урожайности с устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессам — засухе, суховеям, засолению, повышенной кислотности почв, пониженным температурам, болезням и вредителям. При этом чем менее благоприятны погодные и почвенно-климатические условия конкретной зоны, тем в меньшей степени удается оптимизировать условия внешней среды за счет агротехнических и мелиоративных мероприятий, и в большей степени возрастает роль экологически устойчивых сортов и гибридов в обеспечении высоких и стабильных урожаев. В Северном Казахстане роль экологической пластичности сортов в реализации их потенциальной продуктивности значительно выше, чем в других регионах страны, это, в свою очередь, определяет особенности не только поставленных задач и целей, но и методов селекции.

В последнее десятилетие в селекции сельскохозяйственных растений наметился ряд новых направлений, основанных на фундаментальных разработках в биологии. Во многих странах мира получили широкое распространение исследования по биотехнологии (Бутенко Р. Г., 1986; Hess Charles E., 1984; Schmid I., 1987). При этом поиск проводится в различных направлениях. Конечная цель исследований — разработка на основе современных достижений в биотехнологии методов создания качественно новых растений, которые могли бы стать основой при селекции сортов различных сельскохозяйственных культур.

Зона Северного Казахстана характеризуется засушливостью климата. Здесь из каждых 5 лет в лучшем случае 2—3 года относительно благоприятны для получения хорошего урожая зерновых культур. В этой связи решающее значение в увеличении и стабилизации производства зерна по годам в регионе имеет сорт культуры.

Селекционерами Северного Казахстана создан ряд сортов яровой мягкой пшеницы, отличающихся повышенной засухоустойчивостью и продуктивностью. Однако в этом регионе традиционными методами селекции все труднее создавать новые сорта, отвечающие требованиям современного производства. Засухоустойчивость, скороспелость, устойчивость к опасным патогенам и вредителям на севере Казахстана остаются острейшими проблемами.

Разработка и внедрение методов сельскохозяйственной биотехнологии при селекции яровой пшеницы в Северном Казахстане начаты в 1987 году с момента образования Биотехнологического центра ЦСХИ. Уже на первом этапе работ предусматривалось создание исходного материала яровой пшеницы и его обогащение принципиально новыми донорами для селекции сортов на основе сомаклональной вариабельности растений, гаплоидии, эмбриокультуры, клеточной селекции.

Сомаклональная вариабельность растений — это новый источник создания полезных мутаций в селекции растений, по которой к настоящему времени на-

коплен значительный экспериментальный материал. Данный вид мутагенеза характеризуется высокой частотой мутирования. У регенерантов редко наблюдается, мозаичность, поэтому сомаклоны могут быть стабилизированы в течение одного поколения. Эти свойства делают перспективным использование сомаклональной изменчивости в селекции растений (Beversdorf W. D., 1987; Cooper D. B. et al, 1986; Ewans D. A., 1987; Lorz H., Gobel E., Brown P., 1987; Scew croft W. R. et al, 1987).

Сомаклональная изменчивость достаточно хорошо изучена и нашла практическое применение при создании форм растений у таких культур, как сахарный тростник, картофель, кукуруза, рис. По сомаклональной же вариабельности растений пшеницы в литературе имеются немногочисленные и противоречивые сообщения. Одни авторы считают, что скорость мутагенного процесса в культуре тканей растений пшеницы настолько высока, что они могут заменить такие источники создания разнообразия, как межвидовая и внутривидовая гибридизация, индуцированный мутагенез, трансформация. Другие считают, что изменчивость растений пшеницы, индуцированная процессом культуры in vitro, является достаточной для внедрения в селекцию дополнительно к существующим приемам и методам создания исходного материала. Ряд авторов ставит под сомнение существование наследственной изменчивости у регенерантных растений пшеницы, описанной в последние годы (Бутенко Р. Г., 1987; Кривченко В. И., 1983; Cooper D. B. et al., 1986; Naddock S. E., 1986).

Известно, что для селекции в практических целях необходимо иметь большое разнообразие исходного материала. В связи с этим в селекционной практике любой метод найдет применение только при условии, если он будет исключительно продуктивным источником генетической изменчивости и появления мутантов с ценными хозяйственно-биологическими признаками.

По результатам изучения регенерантов яровой пшеницы в течение нескольких поколений нами были выделены новые формы растений, имеющие повышенную продуктивность, высокую кустистость и озерненность колоса, прочную длину соломины. Отмечено проявление различных типов морфологических изменений. Наблюдалась повышенная стерильность колосьев. Однако в основном растения-регенеранты по морфологическим признакам не отличались от исходных родительских форм. С учетом того, что в литературных источниках в настоящее время по сомаклональной вариабельности растений пшеницы имеются противоречивые сообщения, а также с учетом собственного опыта полученные регенеранты пшеницы в основном не отличаются по фенотипу от исходных родительских форм. Для идентификации полученного материала на генетическую изменчивость и селекционную ценность мы использовали метод электрофоретического анализа, С-метод дифференциального окрашивания хромосом и отбор растений для последующей оценки их в полевых условиях.

Метод электрофоретического анализа глиадинов в полиакриламидном геле был использован нами для идентификации растений-регенерантов, полученных из различных сортов яровой мягкой пшеницы северо-казахстанской селекции. Результаты исследований показали, что электрофоретические спектры глиадинов, выделенных из зерновок различных растений-регенерантов, в основном оказались аналогичными спектру исходных материнских форм. Лишь в отдельных случаях растения-регенеранты отличались от материнской формы, например, в зоне медленных компонентов. Таким образом, при анализе достаточно большого набора изучаемых растений-регенерантов (за исключением отдельных случаев) ни по одному из локусов не обнаружено изменений, которые можно было бы характеризовать как сомаклональную вариацию. Полученные результаты подтверждают исследования других авторов.

С-метод дифференциального окрашивания хромосом растений-регенерантов в нашей работе позволил определить происходящие в них нарушения. Причем сходные изменения были выявлены у целого потомства регенерантов, полученных из различных сортов. Например, увеличение содержания гетерохроматина по сравнению с исходной формой может привести к варьированию урожайности, нарушению продолжительности периода вегетации, что в целом подтверждается нашими исследованиями при изучении растений-регенерантов яровой пшеницы в полевых условиях. С-метод дифференциального окрашивания показал, что все проанализированные регенеранты имели нормальное число хромосом, многие из которых отличались по рисунку. Это свидетельствует о том, что изменения хромосом в культуре ткани могут закрепляться в потомстве растений-регенерантов, и сомаклональную вариабельность можно использовать для получения перспективных форм как один из методов внесения изменчивости в хромосомный набор растений.

Создание новых форм растений, обладающих полезными признаками и свойствами в традиционной селекции, достигается направ-

ным индивидуальным отбором из гибридных популяций с последующим испытанием потомства. Следует отметить, что этот прием является основным и наиболее результативным в селекции самоопыляющихся культур независимо от методов и способов создания исходного материала. В настоящее время вопросы, связанные с закономерностями формообразования, и возможности отбора в популяциях, полученных методом сомаклональной вариабельности растений, практически не изучены. В литературных источниках имеются сообщения, что отбор сомаклонов может проводиться среди растений-регенерантов после их испытания в полевых условиях. Во ВНИИ риса таким путем были получены сомаклональные варианты, использованные при создании сорта Биориза, сочетающие длиннозерность и раннеспелость (Бутенко Р. Г., 1986; Cooper D. B. et al, 1986).

В нашей работе основным критерием при отборе растений-регенерантов являлась масса зерна с главного колоса. Нам удалось получить формы растений-регенерантов яровой мягкой пшеницы, имеющих как высокую, так и низкую продуктивность. Это подтверждает мнение многих исследователей о том, что ткани растений в культуре in vitro претерпевают определенные изменения, а растения, регенерированные из этих тканей, различаются. В настоящее время работы с использованием метода сомаклональной вариабельности растений пшеницы на севере Казахстана развернуты по полной схеме селекционного процесса. Перспективные линии-регенеранты проходят селекционную оценку в питомнике конкурсного сортоиспытания. В 1992—1993 годах в Государственное сортоиспытание планируется передать еще 1 сорт яровой мягкой пшеницы.

Следует отметить, что данный метод легко доступен в техническом исполнении и может быть использован селекционными учреждениями для создания исходного материала при селекции сортов пшеницы путем отбора измененных форм из искусственно полученного генетического разнообразия. Однако в селекционных программах при использовании сомаклональной вариабельности до сих пор ряд вопросов остается открытым. Особенно остра проблема отбора и браковки полученного материала, и решается она в основном методами традиционной селекции. В связи с этим необходим поиск достаточно простых и достоверных методов идентификации полученного материала на генетическую стабильность и селекционную ценность. При этом строгую и достоверную оценку исходного материала необходимо проводить уже на первых этапах селекционного процесса, только при этом имеет смысл включать его в селекционную проработку.

Эмбриокультура. Метод внутривидовой гибридизации в традиционной селекции является основой селекционных программ. Основные возделываемые сорта яровой пшеницы созданы с его помощью. Однако результаты его использования в селекции имеют и отрицательные последствия. Так, требования к ускорению селекционного процесса и сокращению сроков создания новых сортов пшеницы привели к сужению генотипической изменчивости и прогрессирующему процессу обеднения генофонда. Идентификация сортов, возделывание их небольшого числа на больших площадях при отсутствии достаточного числа разных генов иммунитета в сорте к одним и тем же патогенам создают благоприятные условия для развития эпифитотий (Бутенко Р. Г., 1986; Кривченко В. И., 1983; Неттевич Э. Д., 1982).

Ограничение генетического потенциала при внутривидовых скрещиваниях на устойчивость к болезням и вредителям, а также отсутствие в исходном материале резерва полезных генов по ряду хозяйственно ценных признаков в будущем может явиться одним из основных лимитирующих факторов при селекции пшеницы. В этой связи при создании новых сортов возникает необходимость поиска методов повышения генетической изменчивости с целью обогащения ее новыми полезными донорами. Один из таких методов — отдаленная и межвидовая гибридизация.

Известно, что многие виды пшеницы не имеют производственного значения, но являются потенциальными донорами засухоустойчивости, холодостойкости, солевыносливости, устойчивости к болезням и вредителям. В диких сородичах пшеницы сосредоточен огромный запас генов хозяйственно ценных признаков. Однако работы по отдаленной гибридизации связаны с определенными трудностями: нескрещиваемостью исходных видов, непрорастанием гибридных семян, небольшим числом гибридных растений и их стерильностью. При решении этих проблем большое значение придается методам сельскохозяйственной биотехнологии, они позволяют получать такие межвидовые и межродовые гибриды и рекомбинанты растений, которые невозможно получить традиционными методами селекции.

Основной задачей работ Целиноградского биотехнологического центра по эмбриокультуре зерновых является создание доноров устойчивости к видам ржавчины и головни с

целью дальнейшего их использования в селекции. Отмеченные выше хозяйственно ценные признаки в настоящее время трансформируются нами в культурные виды в основном из их диких сородичей. За 1989—1991 годы с помощью метода эмбриокультуры нами получены гибриды диких видов пшениц и сортов яровой мягкой пшеницы северо-казахстанской селекции, которые проходят всестороннюю полевую оценку в своеобразных условиях зоны Северного Казахстана. Многие формы растений, полученные методом эмбриокультуры, в настоящее время включены в селекционный процесс.

Селекционная ценность данного метода огромна. Масштабы формообразовательных процессов, их мощность и спектр полученных новообразований при использовании в селекции колоссальны и пока ни с чем не могут быть сравнимы. Метод легко доступен и не требует специального сложного оборудования. При его использовании в селекции можно значительно расширить ареал использования межвидовой и межродовой гибридизации.

Гаплоидия. Известно, что в традиционной селекции сорта создаются путем отбора растений по важнейшим признакам из расщепляющихся гибридных популяций. Однако при этом селекционный процесс удлиняется на много генераций, что усложняет сроки создания нового сорта. В целях сокращения константности от гетерозиготных до гомозиготных линий предложен ряд методов, один из которых — гаплоидия позволяет расширить возможности селекции и ускорить ее, а также создать гомозиготные линии в кратчайшие сроки — за одно поколение.

В настоящее время в нашей стране и за рубежом интенсивно ведутся разработки по усовершенствованию методики получения гаплоидов. Уже получены отдельные положительные результаты в культуре пыльников риса Hu Han, 1983; Vin K. Ch. et al, 1976) и пшеницы. (Buyser I. et al, 1987; Lhang L. I. et al, 1987). Работы по изучению возможности использования данного метода в селекции яровой пшеницы на севере Казахстана начаты нами в 1988 году. На первом этапе отрабатывались методики получения гаплоидов пшеницы при культивировании на питательных средах изолированных пыльников и микроспор, неоплодотворенных завязей и семяпочек. Результаты исследований выявили, что для успешного внедрения данного метода в селекционный процесс необходимы дополнительные исследования, и в первую очередь исследования по оптимизации условий культивирования эксплантатов с целью повышения выхода гаплоидных растений. В литературных источниках имеются сообщения о влиянии основных факторов на этот процесс. Тем не менее для решения проблемы необходимы дополнительные затраты как во времени, так материальные и финансовые.

Накопленный на данном этапе в Биотехнологическом центре экспериментальный материал свидетельствует о том, что теоретические и прикладные возможности гаплоидной технологии могут быть успешно реализованы при создании сортов яровой мягкой пшеницы для почвенно-климатических условий зоны Северного Казахстана.

Клеточная селекция. В Северо-Казахстанском селекцентре ВНИИЗХ осуществляются обширные программы по селекции важнейших зерновых культур на засухоустойчивость, солевыносливость, устойчивость к стрессовым факторам среды. Это направление рассматривается как одно из важнейших для стабилизации урожайности, решения экономических и стратегических проблем зернового хозяйства региона.

Для районов Северного Казахстана со значительными площадями засоленных почв, где ежегодно огромные массивы посевов пшеницы подвергаются острейшей засухе, создание устойчивых сортов особенно актуально. Культура ткани позволяет получать линии клеток и регенерируемые растения с повышенной устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессам. Это одно из перспективных направлений, которое в настоящее время интенсивно разрабатывается для различных зерновых культур. Особенно перспективно использование в культуре ткани селективных сред, увеличивающих давление специфического фактора отбора. Это позволяет начинать процесс селекции на устойчивость к тому или иному неблагоприятному фактору окружающей среды с клеточного уровня.

Работы по клеточной селекции проводятся нами на повышение засухо- и солеустойчивости почв. В питательной среде в качестве селективного агента на засухоустойчивость используется полиэтиленгликоль, на солеустойчивость — хлорид натрия. В выделении засухо- и солеустойчивых форм используется прямая селекция с применением каллусных тканей. В настоящее время Целиноградский биотехнологический центр приступил к разработке метода клеточной селекции на суспензионном уровне.

Клеточную селекцию во многих лабораториях мира используют для создания устойчивости высших растений к фитопатогенам, засолению и закислению почв, пониженным температурам, засухе и т. д. Данный метод универсален для получения устойчивых форм растений практически к любым абиотиче-

ним факторам. Он прост и не требует специальных приемов выделения и клонирования генов, создания векторов для их переноса, не требует проведения регенерации из протопластов или суспензий. Главное условие при его использовании в селекции — это возможность регенерации растений из каллусных культур. В связи с этим в настоящее время необходимо вести поиск методов, способствующих высокой регенерационной способности каллусных культур при их длительном культивировании in vitro. Необходимо также искать возможности возврата морфогенных способностей клеточным структурам, потерявшим морфогенез при длительном культивировании. При продолжительном решении этих вопросов метод клеточной селекции растений может стать одним из основных в селекции зерновых культур в регионе.

ВЫВОД

Экспериментальные исследования и полученные результаты являются достаточно эффективными для включения их в программу селекционных работ на севере Казахстана. Однако все методы нуждаются не только в дальнейшем совершенствовании, но и в более глубоких теоретических разработках.

ЛИТЕРАТУРА

Бутенко Р. Г. Клеточная селекция в селекционном процессе // Состояние и развитие сельскохозяйственной биотехнологии: Материалы Всесоюзн. конф. — Москва, июнь. 1986. — Л., 1986. — С. 29—38.

Бутенко Р. Г. Биология клетки и биотехнология // Наука и человечество. Междунар. ежегодник. — М., 1987. — С. 151—169.

Кривченко В. И. Состав генов устойчивости к болезням и селекция растений // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. — Л., 1983. — С. 47—54.

Неттевич Э. Д. Проблема исходного материала на современном этапе селекции зерновых культур // Вестник сельскохозяйственной науки. — 1982. — № 6. — С. 20—24.

Новосельская А. Ю., Упельник В. П., Метаковский Е. В. Идентификация генотипа регенерантных растений, полученных из каллусной культуры пшеницы // Тез. докл. Всесоюзн. конф. по биотехнологии злаковых культур. — Алма-Ата, 1988. — 76 с.

РЕЗЮМЕ

Авторлар Солтүстік Қазақстанның қуаң далалық аймағы үшін бидай сорттарын шығару селекциясында биотехнологиялық әдістерді пайдалану мүмкіндігін көрсетеді. Биотехнология әдістерін терең зерттеу және жетілдіру — жаздық жұмсақ бидай селекциясында күрделі және тез шешімін табуға тиісті ғылыми жұмыстарды тез аяқтауға көмектеседі.

The possibility of using biotechnological methods for wheat varieties selection suitable for the dry steppe area of Northern Kazakhstan is shown. Though biotechnological methods are of almost equal selection value there exist significant differences between them. Deep research and development of these method will promote the projects in fundumental and applied research for them to be later used in selection of common wheat.