

УДК 632.93

## ГАПЛОИДНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ В ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТОДОВ IN VITRO В СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

**Жангазиев А.С., Тайчибеков А.У., Кашкынбаева Л.Б., Дюсенбаева Ж.С.**

*Таразский государственный педагогический институт, Тараз, e-mail: tch\_a\_42@inbox.ru*

В статье представлены результаты работ о возможности применения андрогенных дигаплоидных линий в селекции пшеницы. Показано, что в условиях юга и юго-востока Казахстана путем использования в селекции методов *in vitro* получены новые селекционные материалы озимой мягкой пшеницы, сочетающие высокую урожайность с важнейшими хозяйственно ценными признаками. В результате испытания АДГ – линии в СП-1 из 50 по продуктивности и по высоте растений для дальнейших испытаний были отобраны 15 (3%). По результатам двухлетнего изучения в КП и при предварительном сортоиспытании наибольший интерес представила селекционная линия АДГ-1050, которая была создана при бэкресном скрещивании сортов (Казахстанская-4×Саратовская-29)×Грекум-476. На клеточном уровне (АДГ-1050) *in vitro* проведен отбор (F<sub>2</sub>), дигаплоидизация (n-21×2), размножение (1993–1995), в результате была создана дигаплоидная линия АДГ-1050Н3, отличающаяся высокой урожайностью. С помощью гаплоидной технологии *in vitro* получены ценный исходный материал для селекции озимой пшеницы. Выделенные АДГ-линии озимой мягкой пшеницы достоверно превосходили по урожайности и по качеству зерна родительских сортов и стандарты. АДГ-1050 линия под названием Нуреке с 2008 года допущена к использованию в производство Алматинской и Жамбылской областей.

**Ключевые слова:** озимая пшеница, селекция, скрещивание, генетика, сорт Нуреке, дигаплоидная линия, гибридизация, популяции, гаплоидная технология

## HAPLOID TECHNOLOGY USE IN VITRO METHODS IN BREEDING WINTER WHEAT

**Zhangaziev A.S., Taychibekov A.U., Kashkynbaeva L.B., Dyusenbaeva Zh.S.**

*Taraz State Pedagogical Institute, Taraz, e-mail: tch\_a\_42@inbox.ru*

The article presents the results of studies on the possibility of the use of androgenic digaploidy lines in wheat breeding. It is shown that in conditions of the south and south-east of Kazakhstan through the use *in vitro* selection techniques to obtain new breeding materials of winter wheat, combining high productivity with the most important economically valuable traits. As a result of tests ADH – line 1 of SP-50 in terms of productivity and adjustment for further tests were selected plant 15 (3%). According to the results of two years of study in KP and the preliminary strain testing of greatest interest presented breeding line ADH-1050, which was established with bekkrossnom crossbred varieties (Kazakhstan-Saratov-4×29)×Grekum-476. At the cellular level (ADH-1050) *in vitro* selection performed (the F<sub>2</sub>) digaploidizatsiya (the n-21×2), multiplication (1993–1995) as a result was created dihaploid line ADH-1050N3, featuring high yield. With the help of *in vitro* haploid technology to gain valuable source material for breeding of winter wheat. Dedicated ADH-line winter wheat, significantly exceeded the yield and quality of grain varieties and parental standards. ADH-1050 line called Nurek since 2008 allowed for use in the production of Almaty and Zhambyl regions.

**Keywords:** winter wheat, breeding, mating, genetics, variety Nurek, diploid line, hybridization, population, haploid technology

В статье представлены результаты работ о возможности применения андрогенных дигаплоидных линий в селекции пшеницы. Показано, что в условиях юга и юго-востока Казахстана путем использования в селекции методов *in vitro* получены новые селекционные материалы озимой мягкой пшеницы, сочетающие высокую урожайность с важнейшими хозяйственно ценными признаками. Новые АДГ-1050 линий достоверно превышали родительские формы и стандарты по урожайности и качеству зерна. В Госреестр РК он внесен как высокоурожайный сорт озимой мягкой пшеницы под названием Нуреке.

Современная стратегия селекции пшеницы направлена на создание сортов обладающих комплексной устойчивостью

к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам окружающей среды, экологической пластичностью. Многими учеными отмечено, что применение методов генной и клеточной инженерии позволяет конструировать новые генетические структуры, получать новые формы и сорта растений с улучшенными наследственными признаками [2–3; 6–8]. Одним из подходов в создании высокопродуктивных, устойчивых к болезням, вредителям и к неблагоприятным факторам среды растений является использование ядерно-плазматического эффекта при отдаленной гибридизации, с помощью метода эмбриокультуры. Второе направление для использования в селекции растений – гаплоидная технология. Она позволяет сократить сроки создания новых

сортов на 4–5 лет. Метод дает возможность ускоренно получать гомозиготные чистые линии из гибридной популяции ( $F_2$ – $F_3$ ), формы и сорта, а также существенно повысить вероятность отбора хозяйственно ценных генотипов при уменьшении объема изучаемой гибридной популяции.

**Цель исследования** – изучение возможности использования гаплоидной технологии в селекции озимой пшеницы на юге Казахстана для создания новых сортов, устойчивых к абиотическим, биотическим факторам окружающей среды и получения зерна высокого качества.

Сотрудники лаборатории селекции озимой пшеницы КазНИИЗиР в содружестве с учеными Института биологии и биоинженерии НПЦРК на практике начали испытывать созданные андрогенные дигаплоидные линии (АДГ-линии), представляющие интерес как ценный исходный материал для практической селекции. В течение более чем 15 лет (1992–2008) испытывали АДГ-линии, полученные методом культуры пыльников в лаборатории генетики и селекции ИББР. Результаты их селекционной проработки представлены в настоящей статье.

#### Материалы и методы исследования

Объектами исследований служили бэккроссные и внутривидовые гибриды ( $F_2$ – $F_3$ ): (BC<sub>1</sub>Казахстанская-4×Саратовская-29)×Грекум-476; (BC<sub>1</sub>Мионовская-808×Скала)×Скала; F<sub>2</sub>Саратовская-29×Эритроспермум-350)×Грекум-476 мягкой пшеницы и коммерческие сорта пшеницы Стекловидная-24; Прогресс; Казахстанская-10; Казахстанская-4; Жетысу; Саратовская-29; Грекум-476.

Донорские растения (пыльников гибриды F<sub>2</sub>) и сорта выращивали в полевых условиях на поливном стационаре КазНИИЗиР. Культуру изолированных пыльников и микроспор изучали согласно методике Б. Анапияева [1]. Оптимальной для культивирования пыльников является стадия вакуолизированной микроспоры. В стадии образования трех листочков нормально развивающегося растения производили удвоение гаплоидного набора хромосом методом вакуум-инфильтрации в растворе колхицина (0,15%). Растения отмывали водой, корешки фиксировали для цитологического анализа и высаживали в почву.

Испытания АДГ-линии проводили согласно «Методики государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур» [4, 5]. Методика закладки опытов в соответствии с основами селекции и математическая обработка результатов исследований проводились общепринятыми методами, в научных исследованиях в соответствии с программой селекции «ОПАКС» [9]. Отобранные АДГ-линии внутривидовых гибридов размножали, одновременно оценивая их на восприимчивость к листовостебельным болезням, устойчивости вредителям, определяли высоту растения, период созревания и продуктивность. Лучшие линии после оценки подвергали стационарному испытанию в питомниках селекции озимой мягкой пшени-

цы (КП, ПСИ и КСИ) на урожайность, устойчивость к листовостебельным болезням, определяли качество зерна. Посев линии озимой пшеницы проводили сеялкой ССФК-7, на делянках с площадью – 20 кв. м, в 3-кратной повторности. Уборка проводилась комбайном «Хеге-125». Оценка линий и сортообразцов на качество зерна проводили в аналитической лаборатории КазНИИЗиР.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Полученные в лаборатории Генетики и селекции ИББР АДГ-линии размножали для проработки их по полной селекционной схеме на поливном стационаре лаборатории селекции озимой мягкой пшеницы КазНИИЗиР.

В результате испытания АДГ-линии в СП-1 из 50 по продуктивности и по высоте растений для дальнейших испытаний были отобраны 15 (3%). Наибольшее количество перспективных АДГ-линий выделено из пыльников гибридов от бэккроссных скрещиваний в сравнении с гибридами от простых парных скрещиваний: BC<sub>1</sub>Казахстанская-4×Саратовская-29)×Грекум-476; F<sub>2</sub>(Саратовская-29×Эритроспермум-350)×Грекум-476; F<sub>2</sub>(ОПАКС-1×Скала)×Скала и др. В 1996–1998 годах в СП-2 отобрано достаточно много высокопродуктивных АДГ-линий от внутривидовых скрещиваний. Особенно выделялись высокой продуктивностью АДГ-линии: АДГ-1050, АДГ-1048, АДГ-1051, АДГ-1-38 от бэккроссных скрещиваний с участием Грекум-476. В дальнейшем при изучении их в СП-2 и в контрольном питомнике, все они по продуктивности, устойчивости к желтой ржавчине и полеганию оказались лучше стандартов. Особенно выделялись высокой продуктивностью и кустистостью: АДГ-1050, АДГ-1048, АДГ-1051. По данным КП, среди АДГ-линии для дальнейшего исследования выделены две формы: АДГ-1050 и АДГ-1048, сочетающие повышенную продуктивность с низкостебельностью, а также слабую восприимчивость к желтой ржавчине.

По результатам двухлетнего изучения в КП и предварительном сортоиспытании наибольший интерес представила селекционная линия АДГ-1050, которая была создана при бэккроссном скрещивании сортов (Казахстанская-4×Саратовская-29)×Грекум-476. На клеточном уровне (АДГ-1050) *in vitro* проведен отбор (F<sub>2</sub>), дигаплоидизация ( $n - 21 \times 2$ ), размножение (1993–1995), в результате была создана дигаплоидная линия АДГ-1050НЗ, отличающаяся высокой урожайностью. Была

испытана в малом (1997–1998 гг.) в конкурсном с 1999 по 2002 гг. в условиях предгорной поливной зоны Заилийского Алатау.

**Разновидность – Эритроспермум.** Относится к среднеазиатской группе. Колос цилиндрической формы, средней длины (8–9 см), средней плотности. Масса 1000 зерен 43 г. (39–49). Сортом среднеспелый с вегетационным периодом 260–278 дней. Зимостойкость хорошая на уровне стандарта Жетысу. Высота растений 87–110 см. Сортом слабо восприимчив к ржавчине и твердой головне. АДГ-1050 линия, под названием «Нуреке» проходила оценку по хозяйственно ценным признакам в конкурсном испытании (1999, 2000 и 2002 гг.). Сортом высокопродуктивный: за годы конкурсного испытания (1999, 2000, 2002) на орошаемых землях предгорной зоны Алматинской области, урожайность зерна Нуреке в среднем за три года составила 65,4 ц/га (с колебаниями от 45 до 85 ц/га) или была на 7,9 ц/га выше, чем у стандарта Жетысу.

Результаты испытаний в КСИ представлены в табл. 1.

В новом сорте удачно сочетаются хозяйственно ценные признаки родительских форм – высокая продуктивность и качество зерна, а также засухоустойчивость. Одним из основных положительных достоинств является высокое качество зерна (табл. 2).

По данным лаборатории технологической оценки качества зерна КазНИИЗиР за 1999–2002 гг. новый сорт Нуреке стабильно формирует высококачественное зерно.

Это обусловлено тем, что для создания нового сорта были привлечены для бэккросса сильная пшеница – Грекум-497, потомство которой отличалось высокой однородностью зерна и стекловидностью. По объему хлеба они превосходили стандартный сорт Жетысу на 172 мм куб, и Безостую 1 на 80 мм куб. Содержание белка в зерне у сорта Нуреке составило 15–16%, сырой клейковины – 31%, физические качества клейковины (упругость, растяжимость, сила муки) очень хорошие, благодаря чему по хлебопекарному свойству сорт относится к сильной пшенице.

Интересной особенностью сорта Нуреке является способность формировать высокий урожай как при яровом, так и при осенне-зимнем посеве в зоне районирования, т.е. сортом факультативный. При осеннем посеве он хорошо переносит зимы. В условиях жесткой богары в яровом посеве на Кербулакском сортоучастке урожайность зерна за три года (2003–2005) составила 13,0 ц/га зерна, что на 1,2 ц/га выше, чем у стандартного сорта Казахстанская-4 (табл. 3).

Таблица 1

Хозяйственно-биологическая характеристика сорта Нуреке в сравнении с сортом-стандартом Жетысу (КазНИИЗиР, КСИ, 1999, 2000, 2002 гг.)

Новый сорт, стандарт	Урожайность, ц/га				Вегетационный период, день	Высота растений, см	Продуктивная кустистость, шт.	Масса 1000 зерен, г	Число зерен с главного колоса	Поражаемость болезнями, балл/л/%
	1999	2000	2002	средняя						
Нуреке	85,2	66,0	45,0	65,4	270	99	3,4	46	41	3/40
Жетысу	75,6	57,0	40,0	57,5	272	97	3,2	43	41	4/60

Таблица 2

Технологическая характеристика сорта Нуреке (КСИ среднее за три года 1999, 2000, 2002)

Сорт и стандарт	Натура зерна, г/л	Стекловидность, %	Содержание клейковины, %	Содержание белка, %	Сила муки, е.а.	Валорем оценка, е.в. (AD VALOREM)	Объем хлеба, мм куб.	Общая оценка хлеба, балл
Нуреке	775	40,7	31,2	15,5	415	53	975	3,8
Жетысу	756	41,0	30,4	14,2	222	46	803	3,2

Таблица 3

Биологическое описание сравнения сорта Нуреке (АДГ-1050) с сортом стандарт Жетысу (в среднем 2002–2010, 2012 гг.)

Показатели	Единица измерения	Сорт Нуреке	Стандарт Жетысу
Производительность семян	ц/га	65,4	57,5
Длительность роста и развития	день	270	272
Длина растения	см	99	97
Альвеограф	е.а.	53,0	46
Объем хлеба	мм/куб.	975	803
Вес 1000 зерен	г	46,0	43,0
Количество зерен в колосе	шт	42	46
Зараженность болезнью желтая ржавчина	балл %	3/20	4/60
Зараженность септориозом	балл %	3/15	4/60

Высокая урожайность этого сорта подтверждена на озимом посеве. По данным государственного испытания в Алматинской области (2004–2006 гг.) на Илийском неорошаемом сортоучастке при размещении озимой пшеницы после многолетних трав средняя урожайность зерна за три года испытания составила 32,0 ц/га, что на 2,8 ц/га больше чем у стандарта – сорта Стекловидная-24. На Илийском сортоучастке по зерновому предшественнику средняя урожайность нового сорта составила 29,6 ц/га, что на 2,5 ц/га больше, чем у стандарта – сорта Стекловидная-24, а по зерновому предшественнику 29,6 ц/га, что на 2,4 ц/га больше, чем у стандартного сорта. Самый высокий урожай зерна по данному сорту был получен в 2006 году на Жамбылском орошаемом сортоучастке, где он составил 45,0 ц/га, что на 11,0 ц/га было выше, чем у стандартного сорта Южная-12, по предшественнику люцерны.

В табл. 3 приведены дополнительные биологические особенности сорта Нуреке и устойчивость его к различным вирусным заболеваниям, такими как септориоз и желтая ржавчина.

Новый сорт – двуручка Нуреке допущен к использованию в условиях производства как факультативный с 2007 года на влагообеспеченных богарных и необеспеченных поливных землях предгорной и среднегорной зоны Алматинской области. Ускоренное внедрение нового сорта Нуреке в производство будет способствовать повышению урожайности и валового сбора зерна данной культуры.

### Заключение

С помощью гаплоидной технологии *in vitro* получен ценный исходный материал

для селекции озимой пшеницы. Выделенные АДГ-линии озимой мягкой пшеницы, достоверно превзошли по урожайности и по качеству зерна родительские сорта и стандарты. АДГ-1050 линии под названием Нуреке с 2008 года допущена к использованию в производство Алматинской и Жамбылской областей.

### Список литературы

1. Анапияев Б. Культура микроспор и гаплоидная биотехнология пшеницы. – Алматы, 2001. – 220 с.
2. Биотехнология в селекции пшеницы на севере Казахстана. Итоги и перспективы // Развитие ключевых направлений сельскохозяйственных наук в Казахстане: селекция, биотехнология, генетические ресурсы: международная конференция. – Астана, 2004. – С. 354–360. (в соавторстве Зеленский Ю.И., Созинова Л.Ф., Любцов В.В., Шек Г.О).
3. Использование ДН-метода для проведения гаметной селекции // Биология науки XXI века: Сборник тезисов 7-й Пущинской школы-конференции молодых ученых 14–18 апреля. – М., 2003. – С. 90.
4. Оразалиев Р.А., Шегебаев О.Ш. Новый сорт получения гибридных семян зерновых культур // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. – 1981. – № 4. – С. 30–32.
5. Рахимбаев И. Биотехнология в Казахстане. Алматы // Вестник региональной сети по внедрению сортов и семеноводства. – 2004. – № 1–2 (8–9). – С. 75–77.
6. Селекция на уровне гамет и молекулярно-генетическая оценка растений-регенерантов яровой мягкой пшеницы // Российская школа-конференция «Генетика микроорганизмов», посвященная 100-летию со дня рождения С.А. Алиханяна. – М.-Пущино-на-Оке, 2006. – С. 33.
7. Селекционная оценка линий-регенерантов яровой мягкой пшеницы, отобранной в условиях *in vitro* к водному стрессу // Современные проблемы почвозащитного земледелия и пути повышения устойчивого развития зернового производства в степных регионах: международная научно-практическая конференция, посвященная 50-летию «НИИЦ ЗХ им. А.И. Бараева». – Шортанды, 2006. – С. 135–139 (в соавторстве Р.Н. Оковитая).
8. RAPD-анализ ДНК линий-регенерантов пшеницы: методические рекомендации. – Астана, 2005. – 17 с (в соавторстве Е.З. Кочиева).
9. Международный классификатор – СЭВ рода *Triticum L.* – Л., 1980. – 81с.