

Исаева В.К., Кубатбекова Г.К.

«БУУДАЙ-ЭГИЛОПС» ТҮР АРАЛЫК ГИБРИДДИК ФОРМАЛАРЫН АЛУУ

Исаева В.К., Кубатбекова Г.К.

ПОЛУЧЕНИЕ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ «ПШЕНИЦА-ЭГИЛОПС»

V.K. Isaeva, G.K. Kubatbekova

CREATION OF «WHEAT-AEGILOPS» HYBRID FORMS

УДК: 57:575.42

Макалa азык-түлүк коопсуздугуна арналган. Кургакчылыкка туруктуулукка багытталган буудайдын селекциясы үчүн баштапкы материалдарды алуу максатында түр аралык гибридизация жүргүзүлдү. Гибридизацияда Дан өсүмдүктөр (Poaceae) уруусунун эки түрү *Triticum aestivum* жана *Aegilops cylindrica* колдонулду. Түр аралык гибриддерди жаратууда өсүмдүктөрдүн традициялык селекциясынын жана биотехнологиянын ыкмалары колдонулду. Алынган формалар Кыргыз Республикасынын кайрак жерлеринде буудайдын түшүмдүүлүгүн жогорулатуу үчүн колдонулат.

Бул илимий изилдөө Кыргыз Республикасынын билим берүү жана илим министрлигине караштуу илим Департаментинин «Кургакчылыкка туруктуу буудайдын селекциясында биотехнологиялык ыкмаларды колдонуу» темасындагы гранттык проекттин алкагында жүргүзүлдү.

Негизги сөздөр: *in vitro* чаңдаштыруу, эмбриокультура, түр аралык гибрид буудай-эгилопс, кургакчылыкка туруктуулук.

Статья посвящена проблеме продовольственной безопасности. Проведена межвидовая гибридизация в целях создания исходного материала для селекции пшеницы на засухоустойчивость. В гибридизации были использованы два вида, относящиеся семейству Злаковых (Poaceae) *Triticum aestivum* и *Aegilops cylindrica*. При создании межвидовых гибридных форм были использованы методы традиционной селекции растений и биотехнологии. Полученные формы будут применяться для повышения урожайности пшеницы в богарных зонах земледелия Кыргызской Республики.

Данное исследование проводилось по грантовому проекту Департамента науки при Министерстве образования и науки Кыргызской Республики на тему «Использование биотехнологических методов в селекции пшеницы на засухоустойчивость».

Ключевые слова: *in vitro* скрещивание, эмбриокультура, межвидовой гибрид пшеница-эгилопс, устойчивость к засухе.

The article dedicated to food security. To create of initial materials forward to drought tolerance directed wheat breeding it was made interspecies hybridization. *Triticum aestivum* and *Aegilops cylindrica*, which belong to Poaceae family were used in hybridization. Hybridization was made by using methods of traditional breeding and biotechnology. Created hybrid forms will be used in rainfed areas of Kyrgyz Republic for wheat yield increasing.

This investigation carried out under “Applying of biotechnology methods in drought tolerance wheat breeding” project granted by Science Department of Education and Science Ministry of Kyrgyz Republic.

Key words: *in vitro* hybridization, embryo culture, wheat-aegilops interspecies hybrid, drought tolerance.

Цель исследования. Интрогрессия генов засухоустойчивости и других ценных признаков в пшеницу от диких видов семейства злаковых.

Актуальность темы. Более половины посевов основной продовольственной культуры – пшеницы в мире (237 млн.га) периодически подвергаются засухе [1]. В период налива зерна влияние повышенных температур, когда они сопровождаются суховеями, даже при наличии достаточного количества влаги в почве, может вызывать снижение урожая пшеницы на 30-50% и более [2].

В условиях Кыргызстана зерновые культуры выращивают в разных почвенно-климатических зонах, как на орошаемых, так и на богарных землях, расположенных на высоте от 500 до 2000 метров, где общая сумма осадков составляет 200-800 мм в год.

В нашей республике основная продовольственная культура – пшеница до 2010-е годы занимала третью часть всей пашни – 1,3 млн. гектар, составляя около 400 тысяч гектаров площади, из которых 100 тыс. гектаров размещались на неорошаемых землях [3]. А по последним данным этот показатель сократился почти в два раза, т.к. под пшеницу отведено 297,4 тыс. гектаров, что на 42,1 тыс. меньше уровня прошлого года [4]. Это связано с диверсификацией сельскохозяйственных культур.

В среднем больше половины этих площадей находятся в зоне богарного земледелия, где количество осадков редко превышает 300-400 мм в год. Накопление влаги, как правило, начинается в октябре. Максимальные запасы накапливаются в весенний период, но уже в мае осадки прекращаются и наступает период интенсивного расхода влаги за счет транспирации и испарения. В конце июня – начале июля в метровом слое почвы влага практически отсутствует [5].

В настоящее время районированные сорта в годы с недостаточным увлажнением формируют мелкое, невыполненное зерно, в результате чего урожай значительно снижается. Несмотря на значительные успехи в селекции необходимо создание новых сортов, сочетающих устойчивость к засухе с высокой и стабильной продуктивностью [6].

Изменчивость и потенциальная продуктивность сортов тесно связаны с климатическими условиями региона. В условиях сухой и жаркой погоды показатели продуктивности значительно снижаются [7]. В этой связи для нашей республики нужны скороспелые, жаро- и засухоустойчивые сорта, с интенсивным ростом весной и быстрым наливом зерна, уходящие от воздушной и почвенной засухи.

Способность растений на первых этапах развития использовать влагу в условиях недостаточного водоснабжения и повышенной концентрации почвенных растворов является одним из важных биологических и хозяйственно-полезных признаков [8].

Улучшение хозяйственно-ценных комплексов, особенно устойчивости к биотическим и абиотическим факторам у хлебных злаков возможно путем обогащения их генофонда за счет диких родственных видов.

Род *Aegilops L.*, содержащий диплоидные, тетраплоидные и гексаплоидные виды, важный источник полезного разнообразия в селекции пшеницы на устойчивость к биотическим и абиотическим стрессорам [9]. Эгилопсы, носители ряда ценных признаков, могут быть использованы для улучшения культивируемых пшениц путем искусственной гибридизации с ними [10]. Отдельные виды этого растения отличаются исключительной мощностью развития, крупноколосостью, необыкновенно высоким содержанием клейковины в зерне [11].

В создании сортов классическими методами селекции требуется не менее 10-12 лет. Ускорение и облегчение селекционного процесса, а также создание растений с новыми качествами – это направления, которые достаточно успешно развиваются с помощью технологий клеточной инженерии, культуры клеток и тканей.

В связи с вышесказанным необходимо создание засухо-жаростойких, высокопродуктивных и с высокими хлебопекарными качествами сортов мягкой пшеницы. Для создания таких сортов необходимо иметь разнообразный генофонд с широким размахом изменчивости, который обеспечил бы направленный отбор сортов нужного типа, чтобы создать такой генофонд за короткие сроки можно осуществлять отдаленную гибридизацию с использованием современных методов биотехнологии.

Материал и методика исследования. При подборе родительских форм были использованы генетические ресурсы пшеницы, созданные отечественными селекционерами и эгилопса, которые были собраны в дикой природе нашей республики.

Проведение посевов осуществлялся на экспериментальном участке кафедры плодощеводства и полевых культур факультета сельского хозяйства Кыргызско-Турецкого Университета «Манас» (КТУ «Манас»). В начале фазы кушения проведена кастрация сортов пшеницы, используемых в гибридизации. В кастрацию вовлечены студенты, выпускающих курсов биологического факультета Кыргызского национального университета им. Ж.Баласагына (КНУ им. Ж. Баласагына) и факультета сельского хозяйства КТУ «Манас». После проведения скрещивания на поле и в условиях *in vitro* по методике М.Ф. Терновского [12], гибридные зародыши пересажены в искусственную питательную среду, которые будут выращены в специальной климокамере лаборатории кафедры садовых и полевых культур факультета аграрной инженерии КТУ «Манас».

Получить растение из таких семян можно только при использовании метода эмбриокультуры, т.е.

выращивания изолированного зародыша на искусственной питательной среде *in vitro*. Метод эмбриокультуры широко применяют при межвидовой гибридизации растений, для микроразмножения ценных гибридов, для клеточной селекции [13]. Этот прием, действенный метод создания принципиально новых объединяющих в себе ценные признаки культурных и дикорастущих видов форм, существенно повышает выживаемость гибридных эмбрионов при отдаленных скрещиваниях, позволяет работать с зародышами, находящимися на ранних стадиях развития, в ряде случаев дает возможность проводить оплодотворение семян непосредственно в пробирках с последующим культивированием эмбриона в контролируемых условиях [14].

Питательные среды для культивирования изолированных клеток и тканей должны включать все необходимые макроэлементы, микроэлементы, витамины, углеводы и фитогормоны [15].

Результаты исследования. Высев семян сортов яровой пшеницы проведен 31 марта 2017 года в коллекционном питомнике экспериментального поля КТУ «Манас». Длина рядков составляла 1,5 метра, междурядье – 22-25 см, повторность трехкратная, посев семян проводился вручную.

Использован метод фенологических наблюдений за сезонным ростом и развитием растений пшеницы в полевых условиях. Всходы появились на 7 день после посева. Колошения у сортов пшеницы начинались с 19 мая. В период прохождения начальных этапов развития стояла сухая и жаркая погода. Из-за таких климатических условий наблюдалось ускорение темпов развития растений.

Полив растений не производился, т.к. исследования направлены на создание засухоустойчивых форм яровой пшеницы.

Подбор материнских форм осуществлялся по дате колошения, т.к. вегетационный период у эгилопса короче, чем у пшеницы. А также были учтены продуктивные показатели материнских форм, т.е. были визуальным образом отобраны растения с крупными колосьями.

В полевых условиях с 23 по 28 мая проведена кастрация материнских форм (рис. 1).



Рис. 1. Изоляция кастрированных материнских форм.

С 26 мая по 3 июня была произведена гибридизация. Во всех комбинациях в качестве материнской формы были взяты сорта яровой пшеницы (*Triticum aestivum*), а в качестве отцовской формы - *Aegilops cylindrica* (рис. 2). Оплодотворение материнских форм с пыльцой эгилопса осуществлялся по методике твиста.

Для преодоления постгамной несовместимости, вызванная одновременным развитием зародыша и эндосперма при отдаленной гибридизации использован метод эмбриокультуры, т.е. выращивания изолированного зародыша на искусственной питательной среде *in vitro* (рис. 3).

Через 12-14 дней после оплодотворения пшеницы с эгилопсом (с 6 по 15 июня), зародыши были пересажены на питательную среду Мурасиге-Скуга без добавления гормонов (рис. 4). Зародыши, полученные в результате межвидового скрещивания, были очень маленького размера и шуплые.

Биотехнологический метод эмбриокультуры позволяет наиболее полно выявить и реализовать различные онтогенетические программы развития зародыша [16], а значит зародыш обладает всеми потенциальными возможностями взрослого организма [17, 18].



Рис. 2. Гибридизация.



Рис. 3. Проведение гибридизации в условиях *in vitro*.



Рис. 4. Пересадка зародышей на питательную среду.

6-июня осуществлялось искусственное оплодотворение в условиях *in vitro*, где также в качестве материнских форм были взяты сорта пшеницы, а в качестве отцовских форм эгилопс – дикий сородич пшеницы.

Все гибридные комбинации, полученные в полевых условиях и *in vitro*, культивируются в термостате при температуре +28°C (рис. 5).

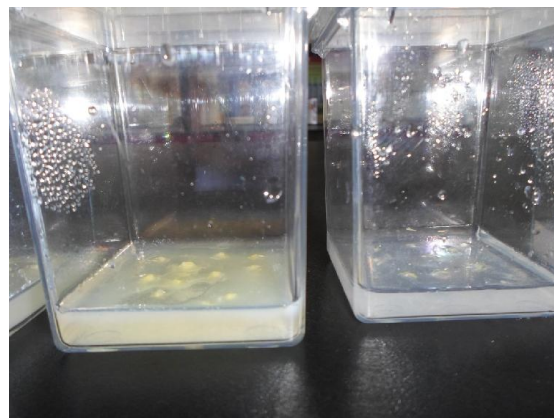


Рис. 5. Эмбриокультура при температуре +28°C.

Выводы. При межвидовом скрещивании нужно учитывать продолжительность вегетационного периода родительских форм, т.к. эгилопс дикая культура и у нее цветение наступало раньше на 3-4 дня, чем у сортов пшеницы. Поэтому в гибридизации были использованы раннеспелые сорта яровой пшеницы, такие как Интенсивная, Жигер, Жаным и др.

1. При культуре зародышей и оплодотворении в условиях *in vitro* нужно соблюдать стерильность. Тщательная стерилизация необходима, так как на искусственных питательных средах, предназначенных для культивирования растительных тканей и клеток, хорошо развиваются и микроорганизмы, что создает опасность для культивируемого материала. В результате жизнедеятельности организмов изменяется состав питательных сред. Кроме того, изолированные от растения ткани, клетки повреждаются микроорганизмами.

2. Продолжительность культивирования зародышей на питательной среде зависит от условий проращивания и от физиологических особенностей скрещиваемых форм. В данное время более крупных размеров достигли зародыши, полученные при скрещивании ♀Интенсивная х ♂A. *Cylindrica*, ♀Жаным х ♂A. *Cylindrica* и ♀Жигер х ♂A. *Cylindrica*.

Литература:

1. Rajaram S. Prospects and promise of wheat breeding in the 21st century. In "Wheat in global environment". Netherland. 2001. - P.37-52.
2. Грибкова Н.Г., Корецкая Т.П. Влияние повышенных температур на рост, развитие и продуктивность озимой пшеницы // Сборник научных трудов по прик. бот., ген. и селекции. Т.94. - Л.,1985. - С.62-67.
3. Акималиев Дж.А. Информация по болезням, вредителям и сорной растительности зерновых культур в Кыргызской Республике // Доклад на Региональной консультации экспертов ЦАК, 26 февраля - 1 марта 2013г., Алматы.
4. Керималиев Ж. В Кыргызстане сократилась площадь посевов пшеницы и хлопчатника // Интервью в «Вечерний Бишкек», 7 августа 2015 г.
5. Охрименко Н.П., Кузнецов П.Н. Основные пути интенсификации богарного земледелия // Научные труды Кирг. научн. произв. об-ния по земледелию, 1986. Вып. 23. - С. 31-36.
6. Isaeva V.K. Features of the 1000-grain mass inheritance in hybrid combinations of winter wheat. Vestnik KNU. - Bishkek, 2017. - N3 (91). - P.17-26.
7. Исаева В.К. Продуктивность сортообразцов озимой пшеницы в условиях обеспеченной богары // Наука и новые технологии. - Бишкек, 2013. - С.163-167.
8. Исаева В.К. Характеристика засухоустойчивости образцов озимой пшеницы по физиологическим показателям // Наука и новые технологии. - Бишкек, 2013. - С.150-153.
9. Мартынов С.П., Добротворская Т.В., Митрофанова О.П. Генетический анализ распространения генетического материала эгилопсов (*Aegilops* L.) в сортах мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Генетика 2015, том 51, №9. - С. 1000-1008.
10. Бабаев А.А., Вингберг Г.Г., Заварзин Г.А. и др. Биологический энциклопедический словарь // 2-е издание. - М.: «Советская энциклопедия», 1986.
11. Кавракова З.Б. Изучение полиморфизма ДНК у видов рода *Aegilops* L., произрастающих в различных природно-климатических условиях Таджикистана // Автореферат диссертации на к.биол.н. 2009.
12. Терновский М.Ф. Теория и практика создания хозяйственно-полезных форм путем отдаленной гибридизации // В кн.: Отдаленная гибридизация растений и животных. - М., 1970. - С. 272-288.
13. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Дегтяров С.В. и др. Сельскохозяйственная биотехнология // Учебник. - М.: Высшая школа, 1998. - С. 7-84.
14. Высоцкий В.А. Роль биотехнологических методов в интродукции, размножении, селекции и сохранении генофонда редких и нетрадиционных растений // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования // Материалы XI международного симпозиума 15-19 июня 2015 г., Пушкино.
15. Кильчевский А.В., Никонович Т.В., Французенок В.В. и др. Сельскохозяйственная биотехнология // Методические указания. Горький, 1999. - С. 7-12.
16. Круглова Н.Н. Оценки коллекции генотипов яровой мягкой пшеницы по отзывчивости автономных зародышей на селективных средах *in vitro*, имитирующих засуху / Биологические ресурсы: флора. - Т.4. - 2012. - С. 2243-2245.
17. Батыгина Т.Б. Хлебное зерно. Монография. - Л.: Наука, 1987. - 103 с.
18. Терёхин Э.С. Зародыш // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т.2: Семя / ред. Т.Б. Батыгина. - СПб.: Мир и семья, 1997. - С. 294-297.

Рецензент: к.биол.н., доцент Сулейманова Ш.С.