

УДК: 633.11.111.:631.147

## ОТБОР СТРЕССОУСТОЙЧИВЫХ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

С.С. БЕККУЖИНА, к. б. н.; Е.А. КАЛАШНИКОВА, д. б. н.

**Анализ малатдигидрогеназного комплекса использовали для отбора гибридных комбинаций на стрессоустойчивость яровой мягкой пшеницы в ранних поколениях. При гибридизации в качестве одной из родительских форм использовали дигаплоидную линию, полученную в результате селекции на уровне гамет в культуре пыльников. Выявлены формы с большим содержанием ферментного комплекса по сравнению с двумя родительскими формами.**

В обзорном материале В.А. Пухальского [8] рассматриваются проблемы использования биотехнологических методов в решении прикладных аспектов селекции. Известный ученый не очень высоко оценивает биотехнологии в решении селекционных задач и, по мнению автора, только гаплоидные технологии на сегодня дают значимые результаты: «Наш опыт показывает, что действенным приложением усилий биотехнологов селекционному процессу есть и будет получение дигаплоидов на основе гибридного материала селекционера».

Гаметная селекция во время роста мужского гаметофита могла бы иметь позитивный эффект на появляющуюся в результате спорофитную генерацию. Такую пыльцевую селекцию путем выживания также считали важным эволюционным процессом в ходе прогрессивного развития покрытосеменных. Повышение устойчивости генотипов в результате отбора пыльцы объясняется частичной экспрессией одних и тех же генов на гаплоидной и диплоидной фазах жизненного цикла растений. «...Гаметофитное поколение в жизненном цикле растений не только обеспечивает перенос генов, но и

участвует в адаптивном процессе...» (цитируется по М.Д. Маковой [5]).

Внедрение культуры пыльников в селекционные программы сталкивается со значительными трудностями. Выход зеленых гаплоидных растений в мировой практике не очень высокий. Кроме того, далеко не каждый генотип или гибридная популяция обладает способностью к андрогенезу *in vitro*, что снижает эффективность получения и использования удвоенных гаплоидов.

Селекция на гены, появляющаяся в мужской гаплоидной фазе, могла бы способствовать повышению успеха спорофита, поэтому нами в ранних работах проведена селекция на уровне гамет на солетолегантность и в результате отобрана дигаплоидная линия [1].

Известно, что ферментный комплекс МДГ-ГОАТ (малатдигидрогеназа-глутамат-оксалоацетат аминотрансфераза) может служить хорошим инструментом для отбора ценных линий на устойчивость к абиотическому стрессу [2].

В обзорной статье А.В. Конарева и др. [4] довольно подробно обсуждается роль белковых и ДНК-маркеров в расширении генетического базиса растений, в частности, их использование в селекции важнейших зерновых культур

\* Казахский государственный агротехнический университет имени С.С. Сейфуллина.

тур. Должное внимание уделяется поиску и отбору ценных генотипов по белковому маркеру, контролю за включением желаемых генотипов в процесс селекции, определению гибридности семян, предсказанию скрещиваемости и степени гетерозиса, а также прочим задачам селекции.

Главная функция малатдегидрогеназной системы — поддержание внутренних физиологических условий в клетках при стрессовом воздействии [7]. МДГ-ГОАТ — один из ферментных комплексов, чётко реагирующих на физиологическое состояние растений и потребности организма. В состав данного комплекса входят четыре дегидрогеназы, две из которых обладают оксидоредуктазной активностью, а две другие — декарбоксилирующей [3].

Цель данной работы — отбор яровой мягкой пшеницы на стрессоустой-

чивость из гибридов  $F_3$  по белковым маркерам и включение перспективных форм в селекционный процесс.

### Материалы и методы

Известно, что гаплоидные технологии позволяют не только значительно сократить сроки селекции новых высокоурожайных сортов и линий растений, но и способствуют проявлению рецессивных признаков, что облегчает отбор полезных генов. При этом вероятность получения желаемой генной комбинации у гаплоидов выше, чем у диплоидов [9, 10, 11].

Для проведения исследований использовали гибриды  $F_3$ , где одной из родительских форм была линия Ю 580 R, отобранная в культуре пыльников в результате гаметной селекции на солетолерантность из сорта Целинная Юбилейная. Селекционерами НППЦ ЗХ

Анализ малатдигидрогеназной системы у гибридов F<sub>3</sub>

Образец	Над + Малат	+Глютамат	Над+ Малат+ Глютамат
P (Лют. 580 R)	0,027	0,275	0,260
P K-6506	0,025	0,279	0,256
F <sub>3</sub> K-6506 × Ю 580 R	0,022	0,242	0,224
P Grapp (Франция)	0,027	0,275	0,260
F <sub>3</sub> Grapp × Ю 580 R	0,025	0,230	0,226
P Cardinal (Германия)	0,032	0,382	0,360
F <sub>3</sub> Cardinal × Ю 580 R	0,050	0,290	0,272
P WW 17260 (Швеция)	0,028	0,134	0,248
F <sub>3</sub> WW 17260 × Ю 580 R	0,039	0,264	0,237
РЛ-16 ячменно-пшеничная линия (Новосибирская обл.)	0,045	0,172	0,183
* F <sub>3</sub> Л 16 ячмень., пшеница линия × Ю 580 R	0,061	0,220	0,204
P Акмола 40	0,036	0,217	0,198
*F <sub>3</sub> (Шортандинский 25 × Акмола 40) × Ю 580	0,420	0,201	0,237
P1 Кенжегали	0,033	0,189	0,122
P2 Скала	0,042	0,189	0,258
**F <sub>3</sub> (Кенжегали × Скала) × Ю 580 R	0,058	0,268	0,281
P Шортандинская 125	0,068	0,145	0,090
*F <sub>3</sub> (Шортандинский 125 × Омская 18) × Ю 580 R	0,044	0,213	0,238
P Fason (Германия)	0,038	0,083	0,110
* F <sub>3</sub> Fason (Германия) × Ю 580 R	0,048	0,087	0,126
P Cardinal (Германия)	0,080	0,363	0,395
F <sub>3</sub> Cardinal (Германия) × Ю 580 R	0,090	0,277	0,395
P K-54975 (США)	0,044	0,220	0,288
** F <sub>3</sub> Ю580R × K-54975 (США)	0,068	0,337	0,363

Примечание. В буквенном обозначении приведены родители P и гибриды F; \* гибридные комбинации с эффектом по сравнению с одним родителем; \*\* гибридные комбинации с эффектом по сравнению с двумя родителями.

имени А.И. Бараева в результате реципрокных скрещиваний с линией-регенерантом Ю 580 R (солетолерантная дигаллоидная линия) получено 13 гибридных комбинаций. В следующей серии экспериментов изменение активности ключевых ферментов азотного обмена в стрессовых условиях определялась качеством белковых маркеров на стресс-устойчивость.

Биохимический анализ ферментного комплекса МДГ-ГОАТ (малатдегидрогеназа-глутамат-оксалоацетат аминотрансфераза) семян гибридных линий пшеницы F<sub>3</sub> проводили в институте молекулярной биологии имени М.А. Айтхожина. Анализ МДГ-ГОАТ проводили по Ермакову [6].

### Результаты и их обсуждение

Для отбора перспективных форм в ранних поколениях проведён анализ ферментного комплекса МДГ-ГОАТ семян гибридных линий пшеницы F<sub>3</sub> с участием дигаллоидной линии Ю 580 R.

В результате экспериментальных исследований выявлены комбинации с большим содержанием МДГ-ГОАТ по сравнению с родительскими формами: Л 16 ячменно-пшеничная линия × Ю 580 R, (Шортландинский 25 × Акмола 40) × Ю 580 R, (Шортландинский 125 × Омская 18) × Ю 580 R, Ю 580 R × Fasan. Необходимо особо отметить комбинации (Кенжегали × Скала) × Ю 580, Ю 580 R × К — 54975, где в гибридах активность МДГ-ГОАТ больше по сравнению с двумя родителями.

### Выводы

1. Дигаллоидная линия, полученная в культуре пыльников, использовалась в качестве одной из родительских форм при про-

ведении гибридизации и отборе форм на стрессоустойчивость.

2. Сделана попытка предсказать степень гетерозиса с помощью белковых маркеров на стрессоустойчивость.

3. Желаемые генотипы в константной форме переданы в селекционный центр для включения их в селекционный процесс.

### Библиографический список

1. Беккужина С.С. Использование ДН-метода для проведения гаметной селекции. 7-я Пушкинская школа-конференция молодых ученых. 14–18 апреля // Сб. тезисов. М., 2003. — 2. Епринцев А.Т., Федорина О.С. Функционирование малатдегидрогеназной системы в мезофилле и обкладке листьев кукурузы в условиях солевого стресса // Физиология растений, 2007. Т. 54. №6. С. 820–807. — 3. Иваннищев В.В., Курганов В.И. Ферменты метаболизма малата: характеристика, регуляция активности и биологическая роль // Биохимия, 1992. Т. 57. С. 653–661. — 4. Конарев А.В., Конарев В.Г., Губарева Н.К., Пенева Т.И. Белки семян как маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений, селекции и семеноводства // Цитология и генетика, 2000. Т. 34. №2. С. 91–103. — 5. Маковой М.Д. Применение метода пыльцевой оценки в селекции тепличного томата на устойчивость к стрессовым абиотическим факторам: Автореф. канд. дисс. М., 1992. — 6. Методы биохимического исследования растений. Сб. под ред. А.И. Ермакова. М.: Колос, 1972. — 7. Пинейру де Карвалью М.А.А., Землянухин А.А., Епринцев А.Т. Малатдегидрогеназа высших растений. Издательство ВГУ, 1991. — 8. Пухальский В.А. Проблемы генетической теории селекции растений // Вестник ВОГиС, 2005. Т. 9, №3 С. 306–316. — 9. Gémes Juhasz. A., Venczel. G., Sagi. Z.S. et al. Production Of Doubled Haploid Breeding Lines In Case Of Paprika, Spice Paprika, Eggplant, Cucumber, Zucchini And Onion. Acta Hort., 2006. 725:845–854. — 10. Jain M., Sopory S.K., Veilleux R.E. (eds) // Kluwer Acad Press In vitro. 1996. Vol. 2. Pp.1–429. — 11. Xu L., Najeeb U., Tang G.X. et al. Haploid Technology Advances in Botanical Research, 2007. Vol. 45. P. 181–216.

Рецензент — д. б. н. А.А. Соловьев

### SUMMARY

Analysis of dehydrogenated malat complex for the selection of hybrid combinations to stress-steadiness of soft spring wheat in early generations was used. During hybridization dihaploid line as a one form among parental which was received in the result of selection on the level of gametes in the culture of anthers was used. Forms with a big substance of enzymatic complex comparing with two parental forms were discovered.