

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К РЖАВЧИНЫМ БОЛЕЗНЯМ

Б.Б. Анапияев¹, К.М. Исакова¹, Е.Б. Бейсенбек¹, А.Т. Сарбаев², А.Б. Ахметова²

¹Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный исследовательский технический университет имени К.И. Сатпаева», Институт химических и биологических технологий, Алматы, Казахстан, bak_anapiyayev@mail.ru

²Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Алмалыбак, Казахстан

Аннотация. В работе приведены результаты использования гаплоидной биотехнологии на основе культуры изолированных микроспор *in vitro* в селекции пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на устойчивость к ржавчинным болезням. Методом гаплоидной биотехнологии были созданы ценные дигаплоидные линии пшеницы из перспективных гибридов. Дигаплоидные линии были испытаны на устойчивость к ржавчинным болезням. Из дигаплоидных линий был отобран и создан новый высокопродуктивный сорт пшеницы, который был районирован в Алматинской и Жамбылской области Южного Казахстана

Ключевые слова: гаплоидная биотехнология, культура микроспор, пшеница, *Triticum aestivum* L., ржавчинные болезни

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1160-1163

Гаплоиды являются уникальным объектом для клеточной селекции и генетической инженерии растений. Экономическая эффективность использования гаплоидов заключается в возможности ускоренного создания генетически стабильных гомозиготных линий из перспективных гибридов и ценных генетических материалов и мутантных форм [Zheng, 2003]. Обычно для генетической стабилизации перспективных гибридов и ценных форм при использовании традиционных методов селекции требуется 6-8 лет. Использование гаплоидной биотехнологии позволяет создать генетически стабилизированные, гомозиготные константные дигаплоидные линии всего за 1-2 года. Также очень важным является то, что у полученных дигаплоидных линий проявляются и рецессивные гены, многие из которых могут нести ценные признаки. Это является очень важным преимуществом гаплоидной биотехнологии, поскольку позволяет экспрессироваться и закрепляться в растениях-регенерантах рецессивным генам, которые могут нести ценные гены. Гены также контролируют устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессовым факторам окружающей среды. Ржавчинные болезни пшеницы наносят ощутимый урон урожаю. В годы эпифитотии они снижают урожайность пшеницы до 60%. Ржавчинные болезни также значительно ухудшают технологические качества зерна. Существует несколько методов получения гаплоидов [Grauda et al., 2010]. Гаплоиды пшеницы можно получать на основе культуры изолированных пыльников [El-Hennawy et al., 2011] и на основе отдаленной гибридизации, где происходит элиминация хромосом отцовских форм [Moradi, 2009]. Для опыления пшеницы и получения гаплоидов при этом используется кукуруза [Saulescu, 2012]. Гаплоидная биотехнология успешно используется для увеличения эффективности селекционного процесса на засухоустойчивость [Anapiyayev et al., 2000].

В нашей работе приведены результаты использования гаплоидной биотехнологии в практической селекции *Triticum aestivum* L. на устойчивость к ржавчинным болезням.

Материалом для исследования служили сорта, изогенные линии и гибриды мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L: Казахстанская-3, Казахстанская-4, Казахстанская-10, Казахстанская-17, Саратовская-29, Стекловидная-24, Эритроспермум-350,

Эритроспермум-841 и Жетысу. Для селекции пшеницы на устойчивость к ржавчинным болезням были использованы изогенные линии Lr 24, Lr 25 и Lr 19 и гибриды, созданные с участием указанных изогенных линий, андроклинные дигаплоидные (АДГ) – линии АДГ 1227, АДГ 1254, АДГ 1255, АДГ 1257, АДГ 1252, АДГ 1251, АДГ 1249, АДГ 1248, АДГ 1245, АДГ 1241, созданные с применением культуры изолированных микроспор *in vitro*. Донорные растения выращивали в полевых условиях на экспериментальных участках до фазы трубкования. Срезанные колосья, содержащие микроспоры на одноядерной стадии подвергали холодной предобработке при +4 °С в течение 7 дней. Для культуры пыльников и микроспор *in vitro* использовали базовые питательные среды Blaydes (0,5 мг/л 2,4-Д) и N6 (1 мг/л 2,4-Д) с нашими модификациями [Анапиев, 2001]. Культивирование пыльников и микроспор *in vitro* осуществляли в темноте при 27 °С. После 20-30 дней культивирования наблюдали образование эмбриоидов и каллусов. Для получения растений-регенерантов эмбриоиды и морфогенные каллусы пересаживали на среды для регенерации Мурасиге-Скуга с 0,5 мг/л ИУК. Статистический анализ полученных результатов проводили по общепринятой методике.

В первой серии экспериментов были определены полевая устойчивость исходных сортов и гибридов пшеницы в условиях инфекционного питомника. Было обнаружено, что поражаемость сортов Казахстанская 3, Казахстанская 10, Казахстанская-4 и Казахстанская 17 варьировала от 40 до 80%, тип поражения – 4 балла, т.е. данные сорта являются восприимчивыми к желтой, бурой и стеблевой ржавчинам. Средневосприимчивыми оказались сорта Стекловидная-24, Эритроспермум-350, Саратовская-29 и Жетысу. Сорта Саратовская-29 и Алмалы характеризовались как слабовосприимчивые, которые поражались на 20%, с типом поражения 2 балла.

Наибольшую устойчивость к ржавчинам показала изогенная линия Lr 24: к желтой ржавчине – 2/20, к бурой – 2/10 и была невосприимчива к стеблевой ржавчине. Сходные значения устойчивости к желтой и бурой ржавчинам проявили изогенные линии Lr 19, Lr 25. По устойчивости к стеблевой ржавчине изогенная линия Lr 25 оказалась слабовосприимчивой – 2/20, а Lr 19 показала среднюю восприимчивость – 3/30, соответственно (табл. 1).

Таблица 1.

Оценка полевой устойчивости сортов и Lr линий пшеницы (инфекционный питомник)

№	Генотипы	Желтая ржавчина <i>Stripe rust</i>		Бурая ржавчина <i>Leaf rust</i>		Стеблевая ржавчина <i>Stem rust</i>	
		1	2	1	2	1	2
1	Казахстанская 3	4	40	4	40	4	60
2	Казахстанская-4	4	40	4	40	3	60
3	Казахстанская-10	3	60	3	30	3	60
4	Казахстанская-17	3	60	3	30	3	30
5	Алмалы	2	20	3	30	3	30
6	Эритроспермум-841	3	30	3	30	3	30
7	Эритроспермум-350	3	30	2	20	3	30
8	Саратовская-29	2	20	3	30	3	60
9	Жетысу	2	20	3	30	3	30
10	Стекловидная 24	4	80	4	40	4	40
11	Lr 19	2	20	2	20	3	30
12	Lr 25	2	20	2	10	2	20
13	Lr 24	2	20	2	10	0	0

Во второй серии экспериментов сорта мягкой пшеницы скрещивали с донорами эффективных генов устойчивости – изогенными линиями Lr 19, Lr 24, Lr 25 (табл. 2). При гибридизации наиболее высокий процент завязываемости отмечен в комбинациях: Казахстанская-3×Lr 24 – 63.1%, Жетысу×Lr 24 – 60.6%, Стекловидная-24×Lr 25 – 59.0%, Казахстанская-4×Lr24 – 50.0 %. Отмечена более высокая завязываемость при внутривидовом скрещивании по сравнению с отдаленной гибридизацией.

Таблица 2.

Создание гибридов мягкой пшеницы с источниками генов устойчивости к ржавчинам пшеницы

Комбинации скрещиваний		Количество опыленных завязей	Количество полученных зерен	Процент завязываемости
1	Казахстанская-3×Lr24	76	48	63.1
2	Казахстанская-4×Lr24	90	45	50.0
3	Казахстанская-10×Lr24	136	63	46.3
4	Казахстанская-10×Lr19	44	23	27.6
5	Казахстанская-17×Lr24	60	16	26.7
6	Саратовская-29×Lr24	104	15	14.4
7	Казахстанская раннеспелая×Lr25	72	24	33.3
8	Стекловидная-24×LR25	44	26	59.0
9	Жетысу×Lr 24	66	40	60.6
10	Казахстанская раннеспелая×Lr24	44	17	38.6

Ценные гибриды пшеницы были генетически стабилизированы методом гаплоидной биотехнологии на основе культуры изолированных микроспор *in vitro*. В результате проведенных исследований по использованию гаплоидной биотехнологии на основе культуры изолированных микроспор *in vitro* в селекции пшеницы *Triticum aestivum* L. на устойчивость к ржавчинным болезням нами были получены эмбриоиды, морфогенные каллусы и растения-регенеранты, из которых были созданы дигаплоидные линии. Для определения устойчивости дигаплоидных линий к ржавчинным болезням они были исследованы в условиях инфекционного питомника Юго-Востока Казахстана (табл. 3).

Таблица 3.

Оценка полевой устойчивости дигаплоидных линий пшеницы (инфекционный питомник)

№	Генотипы	Желтая ржавчина <i>Stripe rust</i>		Бурая ржавчина <i>Leaf rust</i>		Стеблевая ржавчина <i>Stem rust</i>	
		1	2	1	2	1	2
1	АДГ 1227	3	30	2	20	3	30
2	АДГ 1254	1	10	2	20	4	40
3	АДГ 1255	2	10	2	20	4	40
4	АДГ 1257	0	0	2	10	4	40
5	АДГ 1252	2	20	4	60	4	100
6	АДГ 1251	2	10	4	60	4	60
7	АДГ 1249	2	20	4	60	4	60
8	АДГ 1248	0	0	4	70	4	60
9	АДГ 1245	3	10	4	70	4	50
10	АДГ 1241	2	20	4	70	4	50

Примечание: 1 – тип поражения в баллах; 2 – процент поражения

В результате проведенных исследований в условиях инфекционного питомника были отобраны дигапloidные линии пшеницы, которые показали высокий уровень устойчивости к ржавчинным болезням. Дигапloidные линии АДГ 1257 и АДГ 1248 показали высокую устойчивость к желтой ржавчине. Также были выделены дигапloidные линии АДГ 1254 и АДГ 1255.

Указанные дигапloidные линии в последующем были размножены и использованы как исходный материал для создания нового сорта, несущего ценные признаки устойчивости к ржавчинным болезням.

Таким образом, было показано, что гапloidная биотехнология является эффективным методом для ускорения селекционного процесса и быстрой генетической стабилизации перспективных гибридов. На ранних стадиях селекционного процесса были отобраны АДГ линии пшеницы, несущие гены устойчивости к ржавчинным болезням. Созданные в результате исследований дигапloidные линии пшеницы были переданы на испытания в селекционные центры Казахстана и зарубежные страны по линии Международного центра улучшения кукурузы и пшеницы СУММИТ.

Литература

Анапиев Б.Б. Культура микроспор и гапloidная биотехнология пшеницы. – Алматы, 2001. – 220 с.

Anapiyayev B.B., Satybaldiev D., Bogdanova E.D., Polimbetova F.A. Haploid technology in ecological selection of *Triticum aestivum* L. for drought tolerance // Биотехнология. Теория и практика. – 2000. – No. 1-2 (13). – P. 37–41.

El-Hennawy M.F., Abdalla A.F., Shafey S.A., Al-Ashkar I.M. Production of doubled haploid wheat lines (*Triticum aestivum* L.) using anther culture technique // Annals of Agricultural Science. – 2011. – V. 56. – P. 63–72.

Grauda D., Lepse N., Strazdina V. et al. Obtaining of doubled haploid lines by another culture method for the Latvian wheat breeding // Agronomy Research. – 2010. – V. 8. – P. 545–552.

Moradi P., Haghazari A., Bozorgipour R., Sharma B. Development of yellow rust resistant doubled haploid lines of wheat through wheat×maize crosses // International Journal of Plant Production. – 2009. – V. 3. – P. 77–88.

Saulescu N.N., Ittu G., Giura A. et al. Results of using Zea method for doubled haploid production in wheat breeding at NARDI Fundulea – Romania // Romanian Agriculture Research. – 2012. – V. 29. – P. 6.

Zheng M.Y. Microspore culture in wheat (*Triticum aestivum* L.) – doubled haploid production via induced embryogenesis // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2003. – V. 73. – P. 213–230.

BIOTECHNOLOGICAL METHODS IN THE SELECTION OF WHEAT TO RESISTANCE OF RUST DISEASES

B.B. Anapiyayev¹, K.M. Iskakova¹, Y.B. Beisenbek¹, A.T. Sarbayev²,
A.B. Akhmetova²

¹The Kazakh National Research Technical University after K.I. Satpaev, Institute of Chemical and Biological Technologies, Almaty, Kazakhstan, bak_anapiyayev@mail.ru

²Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing, Almalybak, Kazakhstan

Abstract. The results of the use of haploid biotechnology based on the culture of isolated microspores in vitro in the selection of wheat (*Triticum aestivum* L.) for resistance to rust diseases were presented. By the method of haploid biotechnology, valuable doubled haploid lines of wheat from promising hybrids were created. Doubled haploid lines of wheat were tested for resistance to rust diseases. A new high-yielding wheat variety was selected from doubled haploid lines and it was zoned in the Almaty and Zhambyl regions of Southern Kazakhstan.

Keywords: haploid biotechnology, microspore culture, wheat, *Triticum aestivum* L., rust disease