



УДК 633.11:632.11:581.143.6

**В.М. Россеев,
И.А. Белан,
Л.П. Россеева**

ТЕСТИРОВАНИЕ IN VITRO ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Ключевые слова: яровая мягкая пшеница, тестирование, *in vitro*, неблагоприятные факторы, засухоустойчивость, сорт, развитие.

Введение

Проведение исследований по оценке селекционного материала на устойчивость к неблагоприятным факторам среды является одним из условий повышения эффективности селекционного процесса при создании сортов, сочетающих высокую хозяйственную продуктивность с повышенной устойчивостью.

Для злаковых культур обычно характерна относительно высокая устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам среды, в частности к засухе [1, 2]. Однако при отсутствии необходимой оценки селекционного материала засухоустойчивость новых сортов может оказаться недостаточной, поэтому оценка по данному показателю исходного материала и новых форм является необходимым условием эффективной селекции. При этом важным звеном селекционного процесса должно быть тестирование растений в лабораторных условиях. Ранее была показана возможность использования метода *in vitro* для тестирования селекционного материала на устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам среды. Было выявлено наличие связи между реакциями клеточных систем на каллусогенной среде *in vitro* и засухоустойчивостью растений [3, 4]. Однако используемая при этом методика, в которой показателями устойчивости являются доля каллусных культур

с высокой морфогенной (регенерационной) способностью и доля культур с побегами, не всегда позволяет достаточно точно оценить изучаемые сорта, так как при учете результатов у некоторых форм трудно визуально выявить каллусные культуры с высокой морфогенной способностью, вследствие чего возможны ошибки при оценке. Кроме того, в исследованиях, проведенных ранее, не было установлено количественное выражение связи устойчивости со скоростью развития.

Объекты и методы

Объектом исследований служили сорта яровой мягкой пшеницы. Для оценки устойчивости селекционного материала к неблагоприятным абиотическим факторам, в частности к засухе, была использована модифицированная методика тестирования пшеницы *in vitro*. В качестве эксплантов использовали зародыши зрелых семян. Семена стерилизовали по 20 мин. сначала в 70%-ном этиловом спирте, затем в 0,1%-ном растворе сулемы. Простерилизованные семена промывали 6-кратно по 10 мин. стерильной водой. Затем выдерживали их в стерильной воде еще 3 ч. После этого осуществлялась посадка эксплантов. Перед вычленением зародыша нижнюю его часть, где расположен зародышевый корешок, отрезали и удаляли. Верхние части зародышей, содержащие апикальную меристему, сажали на агаризованную питательную среду перпендикулярно к поверхности среды срезом вниз. Экспланты культивировали на среде В5м. В качестве базовой служи-

ла среда Гамборга В5 [5]. В среде В5м содержание $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ увеличено и составляет 0,25 мг/л. Концентрация 2,4-Дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) в среде изменялась в зависимости от варианта опыта. Экспланты культивировали в пробирках, содержащих по 25 мл питательной среды, закрытых ватно-марлевыми пробками, в течение 80-90 сут. в 16-часовом фотопериоде при температуре $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Показателем устойчивости оцениваемых форм к неблагоприятным абиотическим факторам служило проявление побегообразования у культивируемых эксплантов. Индексы устойчивости (i_r) рассчитывались по следующей формуле:

$$i_r = [n_1 / (n_1 + n_2)] \cdot 100,$$

где n_1 – число эксплантов, у которых проявляется побегообразование;

n_2 – число эксплантов, у которых индуцируется каллусогенез, а побегообразование подавляется.

Для определения значения жесткости среды (Р), необходимой для тестирования, использовали построенные по опытным данным графики зависимости проявления побегообразования у сортов стандартов от концентрации в среде 2,4-Д. Устанавливался такой режим тестирования, при котором у сортов с повышенной засухоустойчивостью $50 < i_r \leq 75$. При тестировании сортов в соответствующем режиме градация их по устойчивости следующая: $0 < i_r \leq 25$ – засухоустойчивость низкая; $25 < i_r \leq 50$ – средняя; $50 < i_r \leq 75$ – повышенная; $75 < i_r \leq 100$ – высокая.

Результаты и их обсуждение

При тестировании *in vitro* сортов стандартов с известной засухоустойчивостью было выявлено следующее: чтобы получить результаты, отражающие устойчивость развивающихся растений при оценке их *in vitro* на среде, которая ограничивает или подавляет процесс развития, для форм, отличающихся по темпу развития, необходимы разные по жесткости режимы тестирования. Эти различия, по видимому, обусловлены эффектом скорости развития. Как известно, в процессе

развития происходит перестройка биологической системы, переход из одного состояния в другое. При осуществлении перестройки устойчивость системы изменяется [6]. Следовательно, чтобы при тестировании в данных условиях выявить устойчивость развивающихся форм, оценка должна проводиться с учетом связи устойчивости с процессом развития.

Анализ данных, представленных в таблице 1, показывает, что если проводится сравнительная оценка сортов одного и того же вида, но разных по темпу развития, то при тестировании их в соответствующих режимах значения P/v^2 отличаются незначительно, т.е. в пределах вида

$$P/v^2 = K,$$

где К – константа вида, равная в данных условиях 23;

Р – жесткость среды;

v – средняя скорость развития;

$$v = s/t,$$

где s – число этапов органогенеза в периоде всходы – цветение, т.е. $s = 9$ [7];

t – продолжительность периода всходы – цветение, сут.

Данный период берется потому, что у злаковых культур в конце девятого этапа органогенеза, когда осуществляется зиготогенез, развитие материнского организма практически завершается.

Поскольку согласно опытным данным $P/v^2 = K$, то $P = K \cdot v^2$, т.е. чтобы при оценке сортов *in vitro* получить сопоставимые результаты, отражающие устойчивость форм в процессе развития, режимы тестирования для них по жесткости должны быть пропорциональны квадратам скоростей развития. Связь, выраженная формулой $P = K \cdot v^2$, объясняется тем, что в зависимости от темпа развития устойчивость форм изменяется обратно пропорционально квадрату скорости развития [8].

Таким образом, полученные результаты показывают, что сравнительная оценка сортов *in vitro* на устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам, в частности к засухе, должна проводиться с учетом связи устойчивости со скоростью развития.

Таблица 1

Режимы тестирования *in vitro* яровой мягкой пшеницы (Р) и связь их со скоростью развития (v)

Темп развития	v, сут. ⁻¹	v ² , сут. ⁻²	Р	Р/v ²
Ускоренный	0,20	0,040	0,90	22,5
Средний	0,18	0,032	0,75	23,4
Замедленный	0,16	0,026	0,60	23,1

Результаты оценки засухоустойчивости сортов яровой мягкой пшеницы *in vitro* и в полевых условиях

Сорт	Индекс устойчивости по оценке <i>in vitro</i> (i_r)	Полевая засухоустойчивость, балл	Урожайность, т/га
Ноэ	30	2,5	1,23
Смена	42	3,0	1,42
Иртышанка 10	46	3,0	1,49
Боевчанка	48	3,5	2,42
Памяти Азиева	53	4,0	2,92
Омская 36	56	4,0	3,20
НСР ₀₅	4		0,33

Примечание. Изучение сортов в полевых условиях проводилось на опытных полях ГНУ СибНИИСХ.

Для апробации разработанной методики проведено сравнительное изучение сортов *in vitro* и в полевых условиях. Результаты, представленные в таблице 2, показывают, что индексы устойчивости сортов, определенные путем тестирования *in vitro*, отражают их засухоустойчивость в полевых условиях.

Так, у сортов Памяти Азиева и Омская 36, которые характеризуются повышенной засухоустойчивостью, индексы устойчивости значительно выше, чем у менее засухоустойчивых форм (Ноэ, Смена, Иртышанка 10 и Боевчанка). Анализ полученных данных показывает наличие существенной связи между индексами устойчивости (i_r) оцениваемых сортов и их урожайностью при засухе. Коэффициент корреляции составил 0,87 (связь существенна при $P = 0,95$).

Путем тестирования селекционного материала *in vitro* выявлены образцы, которые характеризуются как формы с повышенной засухоустойчивостью. Рекомендации по результатам тестирования *in vitro* учитывались при передаче новых сортов на Государственное сортоиспытание, в частности, среднеранних сортов Омская 36 и Омская краса, среднеспелого – Омская 38, среднепоздних – Омская 35, Омская 39, Памяти Майстренко и Уралосибирская.

Заключение

Полученные результаты дают основание утверждать, что тестирование *in vitro* по разработанной методике позволяет проводить лабораторную оценку селекционного материала на устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам среды, в частности к засухе. Сравнительное изучение сортов яровой мягкой пшеницы показало, что индексы устойчивости форм, определенные путем тестирования

in vitro, отражают их засухоустойчивость в полевых условиях.

Разработанная методика может быть использована в исследованиях по физиологии растений, а также в селекции при создании сортов с повышенной засухоустойчивостью.

Библиографический список

1. Серебрякова Т.Н. Морфогенез побегов и эволюция жизненных форм злаков / Т.Н. Серебрякова. – М.: Наука, 1971. – 360 с.
2. Тахтаджян А.Л. Система и филогения цветковых растений / А.Л. Тахтаджян. – М.; Л.: Наука, 1966. – 611 с.
3. Способ оценки растений *in vitro* к абиотическим факторам внешней среды: Пат. 2146865. Россия, А01Н4/00, А01Н1/04 / Россеев В.М.; Сиб. НПО «Колос». – № 92002021/13; Заявл. 26.10.92; Оpubл. 27.03.00; Бюл. № 9.
4. Россеев В.М. Реакции клеточных систем зерновых культур *in vitro* и биотестирование селекционного материала на устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам среды: автореф. канд. дис. / В.М. Россеев. – Омск, 2001. – 16 с.
5. Gamburg O.L. Culture methods and detection of gluconases in cultures of wheat and barley / O.L. Gamburg, D.E. Eveleigh // Can. J. Biochem. – 1968. – V. 46. – № 5. – P. 417-421.
6. Веселова Т.В. Стресс у растений (биофизический подход) / Т.В. Веселова, В.А. Веселовский, Д.С. Чернавский. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1993. – 144 с.
7. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений / Ф.М. Куперман. – М.: Высшая школа, 1977. – 288 с.
8. Россеев В.М. Тестирование *in vitro* разных форм яровой мягкой пшеницы / В.М. Россеев // Доклады Россельхозакадемии. – 2007. – № 5. – С. 3-4.