

**ИНДУЦИРОВАННЫЙ МУТАГЕНЕЗ, РЕКОМБИНОГЕНЕЗ И ДНК- ТЕХНОЛОГИИ
В СЕЛЕКЦИИ ЯЧМЕНИ**

И.А. Епишко, аспирант

Научный руководитель – М.П. Шишлов, к.б.н., доцент

РУП НПЦ НАН Беларусь по земледелию, г. Жодино

Необходимость обеспечения продовольственной безопасности Беларусь ставит перед нами задачу формирования конкурентоспособной отрасли растениеводства, так как от ее эффективной работы во многом зависит благополучие большинства сельскохозяйственных организаций Республики, наращивание экспорта и устранение импорта растениеводческой продукции.

Основными ресурсами в обеспечении экономической эффективности отрасли растениеводства, является повышение продуктивных качеств сортов, и рациональное использование их генетических ресурсов.

В результате целенаправленной селекционной работы и использования передовых технологий, несомненно, наметилась положительная тенденция роста продуктивности зерновых культур. Однако за последнее десятилетие увеличение продуктивных качеств отечественных сортов не удовлетворяет современным требованиям, при этом не всегда увеличение количественных показателей продуктивности сочетается с улучшением качественных характеристик, получаемой продукции. Не принимаются во внимание факторы адаптационной способности растений, что в ряде случаев привело к снижению их устойчивости к наследственным и инфекционным заболеваниям. Вместе с мобилизацией естественных ресурсов растений необходима - экспериментальная подготовка естественного исходного материала. В этой связи, в основе современных подходов к управлению генотипической изменчивостью в селекции растений лежат принципиально новые взгляды на роль мутаций и рекомбинаций, на генетическую природу структурной организации и функционирование количественных признаков; на растение, как интегрированную систему генетических детерминант ядра и цитоплазмы; роль абиотических и биотических условий внешней среды, выступающих не только в качестве факторов отбора, но и индукторов мутационной и рекомбинационной изменчивости организмов.

Для повышения результативности мутационной селекции используется - мутантно-сортовая и межмутантная гибридизация. Результатом этих исследований явилось создание новых сортов. По

данным A. Micke и др. (1990) из 852 мутантных сортов среди видов, размножаемых семенами 567 получены путем прямого воздействия мутагенами и 285 сортов при использовании мутантов в скрещиваниях [1, 2].

Использование гибридизации на базе мутантов значительно усиливает степень расширения состава исходного материала в селекции за счет постоянного притока новых мутаций. Намного быстрее, чем при обычной межсортовой гибридизации, можно получать гомозиготные по доминантным мутациям формы. Совместное использование мутационной и комбинационной изменчивости не только ведет к усилению формообразовательного процесса, но и позволяет избежать отрицательных последствий прямого использования мутагенов расчленить сцепленные гены, а также разрушить нежелательные корреляционные связи между признаками.

Включение мутантов в скрещивания ведет к существенному изменению поведения мутантного гена в новой генотипической среде, что влечет за собой, в свою очередь, значительное варьирование всех признаков плейотропного комплекса и в конечном итоге вызывает новый всплеск генотипической изменчивости, так необходимый селекционеру.

В тоже время известно, что интенсивная селекция, связанная с внутривидовой гибридизацией, в ряде случаев привела к сужению генетического разнообразия культивируемых сортов ячменя. В связи с этим возникает потребность в расширении генетической базы за счет индуцированного рекомбиногенеза и мутагенеза.

Для повышения эффективности селекционного процесса необходимо целенаправленное использование мутационной изменчивости в дальнейших скрещиваниях. Для создания нового селекционного материала целесообразно применение, наряду с традиционными методами селекции, мутационной селекции, включающей метод экспериментального мутагенеза, в том числе ДНК-технологии (маркер-сопутствующая селекция), позволяющие использовать генетические резервы скрытой мутационной изменчивости в селекционной практике и тем самым расширить диапазон генетической изменчивости [3, 4, 5].

В селекции ячменя при выведении новых сортов перспективным является использование молекулярных маркеров (marker assisted selection, MAS) [3].

ДНК-маркеров разных признаков и свойств ячменя известно достаточно много, и их число растет. Для создания селекционного материала ячменя устойчивого к инфекционным заболеваниям необходим поиск и применение в селекции ДНК-маркеров детерминирующих устойчивость данной культуры к мучнистой росе. Согласно данным научной литературы в зарубежной селекционной практике в качестве маркера устойчивости ячменя к мучнистой росе используется ген *mlo*. В связи с чем, возникает необходимость в проведении исследований, направленных на изучение возможного применения гена *mlo* в качестве маркера устойчивости к данному заболеванию отечественных сортов ячменя [4, 5].

В связи с чем, целью наших исследований ставилось индуцировать изменчивость гибридов F1 ячменя в культуре *in vitro* и создать исходный материал для селекции на иммунитет и качество с использованием мутационно-рекомбинационной изменчивости и ДНК-технологий.

Исследования проводились в РУП НПЦ НАН Беларусь по земледелию в лаборатории генетики и биотехнологии. Для расширения генетической изменчивости исходных форм использовался индуцированный рекомбиногенез и мутагенез, целесообразность применения которого описана в работах Шишлова М.П. [2].

Для проведения гибридизации в тепличных и полевых условиях были использованы образцы: ♀ Постех, Дивосны, Гонар; ♂ К-24600, К-2930, К024641, MMC. 70% полученных гибридов на 12 сутки вводили в культуру *in vitro* (V), оставшиеся 30% оставляли в обычных условиях, которые служили контролем для проведения сравнительного анализа. На следующем этапе гибриды, введенные в культуру *in vitro*, подвергали сенсибилизации (С) на стадии роста 5-6 см в течении 22 часов. Для этого использовали сенсибилизирующий раствор, представляющий собой водный раствор галоген-производные азотистых оснований, совместно с ингибиторами синтеза тимина, репарирующих систем и ДМСО для более легко проникания реагентов через мембрану клетки.

В след за сенсибилизацией данные образцы были подвергнуты ультрафиолетовому облучению в течении 2 часов. Затем высажены в искусственный грунт, и после того как окрепли, в сосуды с землей.

Родительские и гибридные растения F1 полученные в вегетационном опыте из обычных гибридных зерновок и в результате регенерации из незрелых зародышей, сенсибилизации и облучения УФ были подвергнуты биометрическому анализу по высоте и элементам продуктивности и устойчивости к болезням.

В результате проведения гибридизации было получено 3554 гибрида. Лучшие результаты показали комбинации Дивосны х Дивосны VC, Дивосны х K024641 и Поспех х К-2930 V. Анализ данных, полученных в ходе эксперимента показал, что масса 1000 зерен увеличилась свыше 10 г или на 22 %, продуктивная кустистость возросла с 2 до 6 шт, длина колоса увеличилась на 3 см или на -50% в сравнении с контролем. На данный момент получены гибриды F₂ и F₃ в полевых и тепличных условиях и при проведении анализа полученных результатов наблюдается передача хозяйственно полезных признаков потомкам.

Полученные нами данные свидетельствуют о целесообразности использования индуцированного мутагенеза в создании исходного материала для селекции.

На данном этапе исследований ведется работа по приданию полученным гибридным формам устойчивости к мучнистой росе с помощью передачи им гена mlo, детерминирующего устойчивость растений к данному заболеванию и общую адаптивную способность полученных гибридов к окружающей среде.

Список использованной литературы:

1. Дишлер, В.Я. Индуцированный рекомбиногенез у высших растений. – Рига. Зинатне. 1983. – 222 с.
2. Шишлов, М.П. Индуцированный мутагенез и рекомбиногенез ячменя и овса / М.П. Шишлов.– Мн.: УП «ИВЦ Минфина», 2004. – 179 с.
3. Картель, Н.А. Эффекты экзогенной ДНК у высших растений/ Картель, Н.А. – Мн.: Наука и техника, 1981. – 157 с.
4. Knapp, Steven J. Marker-Assisted Selection as a Strategy for Increasing the Probability of Selecting Superior Genotypes / Crop Sci., Bldg. 451C, Dep. of Crop and Soil Science, Oregon State Univ., Corvallis, OR 97331.
5. Mesfin, A. Quantitative Trait Loci for Fusarium Head Blight Resistance in Barley Detected in a Two-Rowed by Six-Rowed Population / A. Mesfin [et. al.] // Genome Dynamics, Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee DD2 5DA, Scotland.