

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ ЯЧМЕНЯ

И.А. Епишко

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»

Ячмень (*Hordeum vulgare L.*) – одна из важнейших зерновых культур. Мировое производство зерна этой культуры составляет более 160 млн. т. Из них более 65% зерна ячменя используется на кормовые цели, до 15% потребляют пивоваренная и пищевая промышленности. Крупнейшими производителями его являются Россия, Канада и США.

По данным *Busines Stat*[®] (2005-2014гг.), который проводит ежегодную оценку мирового рынка ячменя, посевные площади в Беларуси под ячмень в 2008 году занимали 639240 га, емкость рынка составляла 2,225 млн. т. Более высокими показателями характеризуются только Германия (11,215 млн. т.), Китай (4,941 млн. т.), Саудовская Аравия (7,262 млн. т.), Иран (3,485 млн. т.), США (5,078 млн. т.), Турция (8,123 млн. т.), Франция (5,688 млн. т.).

Среди 59 стран мира по стоимостному импорту ячменя Беларусь занимает 10 место.

Приведенные данные свидетельствуют, что ячмень для Беларуси, так и для многих стран является важной экспортной составляющей.

Согласно источника *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, прогнозируемые показатели площадей возделывания ячменя в мире будут неуклонно расти. Если в 2009 г. площади под ячмень оценивались в 51,9 млн. га., то в 2014 г. составят 57,9 млн. га, т.е увеличатся на 6 млн. га., или на 11,6% [2].

Рост производства и потребления ячменя в мире, ставит перед селекцией, семеноводством и растениеводством задачу не только создания урожайных, с определенными качественными характеристиками, устойчивых к биотическим и абиотическим факторам среды сортов, но и поддержания их сортовой чистоты, а также рационального размещения в различных природно-климатических зонах [17].

Высокопродуктивные сорта растений являются основой любой технологии производства, где на их долю отводится 40-50 %. Эффективная селекционная работа по созданию новых генотипов растений для нужд сельского хозяйства базируется на генетике как теоретической основе селекции, а традиционная селекция как наука, искусство и ремесло претерпевает серьезные изменения. К примеру, в растениеводстве это связано с сужением генетической изменчивости современных сортов, разнообразием почвенных, климатических и агротехнических условий возделывания, быстрыми изменениями в популяциях вредных организмов, необходимостью быстрой сортосмены и сортообновления, расширением спектра признаков, по которым производится отбор, необходимостью создания системы взаимодополняющих сортов по культуре и др. [12].

По мнению А.А. Жученко и А.В. Кильчевского без научной основы трудно рассчитывать на эффективное и интенсивное ведение отрасли растениеводства. Принятие концепции устойчивого развития сельского хозяйства, поставило перед растениеводами новые цели в селекции растений, поскольку именно сорт является основой технологии, обеспечивающей высокую продуктивность и устойчивость агробиоценозов, энергоэффективность и природоохранность технологий, высокое и экологически безопасное качество продукции [4,5,12].

Наиболее четко эти цели отражены в новой европейской платформе «Растения для будущего» на 2005-2025 годы в области геномики и биотехнологии растений, разработанной специалистами Европейского Союза [13].

К числу наиболее значимых целей относятся:

- создание растений с повышенным содержанием необходимых макро- и микрокомпонентов и пониженным содержанием антипищевых соединений и средовых поллютантов;
- повышение урожайности без дополнительного внесения удобрений, устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам, стабильности урожая, технологичности, снижение потерь;
- создание растений, которые можно выращивать при уменьшении энергозатрат в технологию и переработку конечного продукта, что позволит уменьшить эрозию почвы; использование средств производства, энергии и воды.

В этой связи, по мнению А.В. Кильчевского [10,13], основными приоритетами в селекции растений должны стать:

- расширение спектра генетической изменчивости путем применения мутагенеза, рекомбиногенеза и трансгенеза;
- повышение эффективности отбора при помощи маркерной селекции и экологической организации селекционного процесса;
- повышение эффективности селекционного процесса, используя генетико-статистические методы в селекции;
- сокращение сроков создания сортов и гибридов на основе применения фитотронов и биотехнологических методов (клональное микроразмножение ценных генотипов и т.д.).

Предложены концептуальные модели сортов и общая стратегия их селекции, предусматривающие:

- оценку исходного материала по комплексу хозяйственно-ценных признаков, выбор исходных форм для гибридизации, соответствующих задаче селекции;
- проведение отбора в ранних поколениях ($F_2 - F_5$) по хозяйственно-ценным признакам;
- проведение испытаний для оценки селекции.

Для интенсификации процессов селекции в растениеводстве в НПЦ по земледелию совместно с МСХП разработана Программа развития селекции и семеноводства зерновых, зернобобовых, технологических и кормовых культур на 2008-2012 годы.

В программе обосновано 6 базисных составляющих, два из которых обозначены основными, это:

- освоение и использование в технологиях селекционных процессов современных генетико-биотехнологических методов;
- ускорение создания сортов.

Однако, в настоящее время в Беларуси из достаточно широкого спектра биотехнологических приемов и методов воздействия на генотип растения, в некоторой мере, фрагментарно, в технологии селекции внедрены только методы культуры органов и тканей *in vitro*. С использованием методов микроразмножения получены сорта рапса и клевера. В тоже время масштабной, системной, конвейерной работы не налажено [7].

Несомненно, необходимо оперативное использование в реальных практических селекционных процессах методов молекулярной биотехнологии: маркерной ДНК-селекции по количественным и качественным признакам продуктивности, устойчивости к наследственным и инфекционным заболеваниям; ДНК – типирования (идентификация) [7].

Генетические исследования за последние десятилетия в мире перешли на качественно новый уровень. В ряде лабораторий широко применяются молекулярные методы, построены генетические карты ряда хозяйственно-ценных организмов. Разработаны методы переноса генов от одного организма другому (трансгенез), методы культивирования изолированных клеток, тканей и органов (клеточная инженерия), использования генетических маркеров для разработки технологий селекции с помощью маркеров [12].

В настоящее время выполнено огромное количество работ, в которых на разных видах сельскохозяйственных растений проведен поиск функционально-значимых генов хозяйственных признаков методом позиционного картирования, разновидностью которого является *qtl* (*Quantity trait loci*) [3, 8, 18, 24].

В практике маркер – опосредованной селекции особое распространение получило маркирование моногенных или олигогенных признаков. В основном это гены вертикальной устойчивости к фитопатогенам [14, 25].

В этой связи, в странах с развитым растениеводством, разработаны стратегии селекции основных сельскохозяйственных культур на устойчивость к наиболее вредоносным болезням, которые базируются на информации об эволюционном потенциале возбудителей болезней и наличии генетического разнообразия устойчивости хозяев. В основу методологии создания устойчивых сортов положены принципы, как общие, применительно к любой сельскохозяйственной культуре, так и специфические, определяемые для каждой конкретной патосистемы.

Развитие методов молекулярной генетики позволило картировать, клонировать и секвенировать некоторые гены устойчивости к болезням и гены авирулентности патогенов. Эти исследования показали значительную генетическую вариабельность, выражающуюся в кластеризации генов, мно-

жественном аллелизме и полимерии (аддитивных генов) генов устойчивости и позволили реализовать стратегию пирамидирования генов устойчивости. В то же время, несмотря на то, что на проблеме создания сортов с длительной устойчивостью сфокусированы усилия специалистов более 60 лет, до настоящего времени нет однозначного объяснения этого явления. Однако известны гены, обеспечивающие длительную устойчивость против определенных патогенов, например ген *mlo*, детерминирующий устойчивость злаковых к мучнистой росе, в том числе и ячменя (*Hordeum vulgare* L.) – важнейшей зерновой культуры в мировом сельскохозяйственном производстве [15,16, 21, 22, 23].

Одним из главных факторов снижения урожая и его качества у этой культуры является поражение грибковыми болезнями. Полная же реализация продуктивности сорта возможна в том случае, если он обладает высокой устойчивостью к болезням [6]. Наиболее экономически выгодный и экологически безопасный способ защиты от болезней, несомненно, является создание и возделывание устойчивых сортов [20].

Одним из способов создания сортов с длительной устойчивостью является использование доноров неспецифической устойчивости и перимидирование генов специфической устойчивости. При создании устойчивых сортов целесообразно вовлечение в селекцию доноров неспецифической устойчивости. Для некоторых фитопатогенов, например таких, как возбудитель фитофтороза картофеля, фомопсиса подсолнечника, фузариоза колоса данный способ является единственно возможным способом создания устойчивых сортов [21,22,23]. Тырышкин Л. Г. рекомендует на первом этапе создания резистентных сортов провести поиск доноров устойчивости, т.е. форм, защищенных ранее не использованными генами устойчивости, способных легко передавать признак при гибридизации [20].

Однако важной проблемой остается выявление комбинаций генов устойчивости, которые бы обеспечили длительную защиту хозяина от болезней.

По мнению О.А. Афанасенко, члена-корреспондента РАСХН, стратегия продления жизни генов расоспецифической устойчивости к заболеваниям предполагает:

1. Наличие генетического разнообразия устойчивости растений к болезням.
2. Создание многолинейных сортов или использование смеси сортов.

Очень важным моментом при создании конвергентных сортов является наличие эффективных методов отбора в гибридных популяциях растений не только по фенотипу, но и по генотипу. Данную проблему в настоящее время можно решить путем использования молекулярных маркеров, которые позволяют ускорить процесс селекции и снизить затраты на многолетние испытания. В последнее время исследования по выявлению маркерных генов устойчивости различных видов растений и, в частности ячменя, интенсивно развиваются в основном в США, Австралии и некоторых странах Европы. Наибольший прогресс достигнут в разработке молекулярных маркеров для генов устойчивости пшеницы к ржавчинным грибам. Достаточно сказать, что только для возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы и ячменя выявлено более 60 ДНК-маркеров, которые ассоциированы с 34 генами устойчивости [1].

Резюмируя исследования О.А. Афанасенко, очевидно, что, разработка методологии создания сортов зерновых культур в т.ч. и ячменя с длительной устойчивостью к болезням напрямую зависит от знания эволюционного потенциала наиболее вредоносных видов и генетического разнообразия устойчивости генисточников. С другой стороны, целесообразно в селекционной практике использовать генетические коллекции доноров устойчивости, исходный материал для селекции в виде дигаплоидных и бикроссных линий, а также ДНК-технологии, базирующиеся на использовании молекулярно генетических маркеров продуктивных качеств и устойчивости к инфекционным заболеваниям [21, 22, 23].

Бесспорно, с появлением методов молекулярной биотехнологии возможности человека в «управлении формообразовательным процессом» необычайно возросли. Однако весь исторический опыт развития адаптивной системы селекции, а также особенности биотехнологических методов свидетельствуют о том, что единственная возможность эффективного использования их лежит на пути интеграции традиционных методов селекции растений и ДНК-технологий [19].

Таким образом, обобщая теоретические знания и передовой опыт зарубежных и отечественных ученых-селекционеров выведения сортов зерновых культур в т.ч. и ячменя нами проведены исследования, направленные на разработку, метода создания исходного материала для селекции гибридов F1 ячменя в культуре *in vitro* с использованием традиционных методов селекции (отбор и под-

бор исходных форм для селекции с использованием образцов ярового ячменя мировой коллекции ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, гибридизации), мутационно-рекомбинационной изменчивости и ДНК-технологии (маркер-сопутствующей селекции), как генетической основы в селекционном и сортообразовательном процессе.

Для проведения гибридизации в тепличных и полевых условиях были отобраны образцы: ♀ Пospех, Дивосны, Гонар; ♂ К-24600, К-2930, К024641, ММС. 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 сенсibiliзации (С) на стадии роста 5-6 см в течении 22 часов. Для этого использовали сенсibiliзирующий раствор, представляющий собой водный раствор галогенпроизводные азотистых оснований, совместно с ингибиторами синтеза тимина, репарирующих систем и ДМСО (диметилсульфаксит) для более легкого проникновения реагентов через мембрану клетки.

В след за сенсibiliзацией данные образцы были подвергнуты ультрафиолетовому облучению в течении 2 часов. Затем высеяны 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, сенсibiliзации 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 x Дивосны VC, Дивосны x К024641 и Пospех x 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, длинна 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.

Для придания 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, нами были подобраны генисточники образцов ярового ячменя коллекции ВНИИ им. Н.И. Вавилова: Saloon , К-30223, К-30225.

Идентификация гена *Mlo*, детерминирующего устойчивость полученных образцов гибридов, проведена с использованием ДНК-технологий в лаборатории генетических ресурсов, института генетики и цитологии НАН Беларуси. Для этого были оптимизированы условия проведения ПЦР-ПДРФ: подобраны праймеры, состав реакционной смеси, программа проведения ПЦР.

Таким образом, проведенные нами исследования и полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования индуцированного мутагенеза и рекомбинагенеза, генисточников образцов устойчивости к мучнистой росе и ДНК-технологий для идентификации устойчивости образцов к патогену в создании исходного материала для селекции. Применение данных биотехнологий позволило в два раза ускорить процесс создания исходного материала ячменя для селекции, резистентного к мучнистой росе, увеличив показатели продуктивности до 20%, в сравнении с исходными формами.

Литература

1. Афанасенко, О.А. Проблемы создания сортов сельскохозяйственных культур с длительной устойчивостью к болезням /О.А. Афанасенко// <http://www.z-i-k-r.ru/interest/interestafanasenko.html>
2. Анализ мирового рынка ячменя: 2005-2014гг. / Busines Stat®. М. 103 с.// <http://businesstat.ru>
3. ДНК маркеры в генетике и селекции растений / Н.А. Картель [и др.]// Молекулярная и прикладная генетика : сборник научных трудов Т. 6 / М75 ред.кол. А.В. Кильчевский [и др.]. Минск, 2007. – С. 81-91.
4. Жученко, А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы) / А.А. Жученко // - М., 2001. – Т. I. – 780 с.
5. Жученко, А.А. Экологическая генетика культурных растений (адаптация, рекомбинагенез, агробиоценоз) / А.А. Жученко // - Кишинев, 1980. 589 с.

6. Иеронова, В.В. Комплексная оценка и подбор экологически – пластичных форм ячменя (*HORDEUM L.*) для условий тюменской области / В.В. Иеронова // автореферат дис. на соиск. уч. степени канд. биол. наук: 03.00.16 – экология. Тюмень, 2007. 24 с.
7. Кадыров, М.А., Лужинский Д.В. Селекция основных сельскохозяйственных растений в Беларуси: традиции, инновации, результативность / М.А. Кадыров, Д.В. Лужинский // Молекулярная и прикладная генетика : сборник научных трудов Т. 9 / ред.колл.: А.В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. Минск, 2009. – С. 32-37.
8. Картель, Н.А. ДНК маркеры в генетике и селекции растений / Н.А. Картель // От классических методов генетики и селекции к ДНК-технологиям : материалы междунар. науч. конф. – Гомель, 2007. – С. 157.
9. Картель, Н.А. Молекулярные маркеры в изучении хозяйственно-ценных признаков сельскохозяйственных культур / Н.А. Картель // Молекулярная и прикладная генетика : сборник научных трудов Т. 9 / ред.колл.: А.В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2009. – С. 19-27.
10. Кильчевский, А.В. Метод оценки адаптивной способности и стабильности генотипов, дифференцирующей способности среды. Сообщ. I Обоснование метода / А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева // Генетика. – 1985 б. – Т.21, №9. – С. 1481-1490.
11. Кильчевский, А.В. Генетико-экологические основы селекции растений / А.В. Кильчевский // Информационный вестник ВОГИС. – 2005. – Т 9, №4. – С. 518-526.
12. Кильчевский, А.В. Генетические основы селекции растений / А.В. Кильчевский // Молекулярная и прикладная генетика : сборник научных трудов Т. 6 / М75 ред.кол. А.В. Кильчевский [и др.]. Минск, 2007. – С. 13 -21.
13. Кильчевский, А.В. Эколого-генетические аспекты селекции растений / А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева // Молекулярная и прикладная генетика : сборник научных трудов Т. 9 / ред.колл.: А.В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. Минск, 2009. – С. 14-18.
14. Кудрявцев, А.М. Маркер – опосредованная селекция растений / А.М. Кудрявцев // Молекулярная и прикладная генетика : сборник научных трудов Т. 9. / ред.колл.: А.В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. Минск, 2009. – С. 29-31.
15. Мироненко, Н.В. Генетический анализ вирулентности возбудителя сетчатой пятнистости ячменя гриба *Pyrenophora teres* / Н.В. Мироненко [и др.] // Методические основы селекции зерновых культур и картофеля на устойчивость к болезням. – С-Петербург, 2005, с. 41–54.
16. Мироненко, Н.В. Характеристика популяций *Synchytrium endobioticum* по вирулентности, агрессивности и ДНК-маркерам / Н.В. Мироненко [и др.] // Микол. и фитопатол. 2009, т. 43, вып. 5, с. 460–469.
17. Поморцев, А.А. Гордеин-кодирующие локусы как генетические маркеры в популяциях, филогенетических и прикладных исследованиях ячменя : автореферат дис. ... доктора биол. наук 03.00.15 / А.А. Поморцев // – Москва, 2008. – 48 с.
18. Смарагдов, М.Г. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции / М.Г. Смарагдов // Генетика, 2009, том 45, №6. – С. 725-728.
19. Тарануха, Г.И. Фундаментальные исследования и их прикладное значение в селекции и семеноводстве / Г.И. Тарануха // От классических методов генетики и селекции к ДНК-технологиям : материалы междунар. науч. конф. – Гомель, 2007. – С. 67.
20. Тырышкин, Л. Г. Генетическое разнообразие пшеницы и ячменя по эффективной устойчивости к болезням и возможности его расширения : диссертация ... доктора биологических наук: 03.00.15, 06.01.11 / Тырышкин Лев Геннадьевич. – Санкт-Петербург, 2007.- 258 с.: ил. РГБ ОД, 71 07-3/298.
21. Afanasenko O. Investigations on populations of *Pyrenophora teres* f. *teres*, the cause of net blotch of barley// J. Russian Phytopathol. Soc. v. 2. 2001, p. 9–18.
22. Afanasenko O., Mironenko N., Filatova O., Kopaahnke D., Kramer I., Ordon F. Genetics of host-pathogen interactions in the *Pyrenophora teres* f. *teres* (net form) – barley (*Hordeum vulgare*) pathosystem // Eur. J. Plant Pathol., 2007, v. 117, p. 267–280.
23. Afanasenko O., M. Jalli, H. Pinnschmidt, O. Filatova, G. Platz. Development of an international standard set of barley differential genotypes for *Pyrenophora teres* f. *teres* / Plant Pathology, 2009, v. 58. p. 665–676.
24. Integrating marker-assisted selection in crop breeding – Prospects and challenges / R. Babu [et al.] // Current Science. – 2004. – Vol. 87. – P. 607-619.
25. Molecular Breeding Laboratories in the Genomics Era: Current Status and Future Considerations / B.C.Y. Collard [et al.] // International Journal of Plant Genomics. – 2008. Vol. Article ID 524847. – 25 p. doi: 10.1155/2008/524847.