

3. Жученко А.А. Адаптивное растениеводство (эколого-генетические основы): теория и практика. Т.2 / М.: Изд. Агрорус. – 2009. – 1104 с.
4. Дебелый Г.А. Зернобобовые культуры в Нечернозёмной зоне РФ. – М. – Немчиновка, 2009. – 217 с.
5. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. – Кишинев: «Штиинца». – 1980. – 588 с.
6. Зеленев А.Н., Щетинин В.Ю. Диморфные агрофитоценозы гороха на зерно // Доклады Россельхозакадемии. – 2008. – №2. – С. 13-15.
7. Зеленев А.А. Генотипическая специфика формирования технологичных сортосмесей гороха с участием расщепленносточкового морфотипа // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2013. – №4(8). – С. 16-18.
8. Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents//– Biochem. Soc. Trans: 1983: Vol. 11: №5. P. 591–592.
9. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии/– М.: Просвещение, 1975. – 318 с.
10. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос, 1976. – 256 с.

PHYSIOLOGICAL FEATURES OF DISSECTED PINNULED LEAF MORPHOTYPE OF PEAS IN THE PURE AND MIXED SOWINGS

Zelenov A.A.

FGBNU «THE ALL-RUSSIA RESEARCH INSTITUTE OF LEGUMES AND GROAT CROPS»

Novikova N.E.

FGBOU VPO «OREL STATE AGRARIAN UNIVERSITY»

Abstract: *Dissected pinnuled leaf morphotype possesses a number of advantages over modern cultivated varieties, and the main thing from them is high indicators of biological and yield potential. However, low resistance to lodging stirs its realizations. Elimination of this lack is possible at the expense of selection release of lines resistant against lodging. The second method is a companion sowing with not lodging basic component.*

Keywords: peas, selection, physiology, dissected pinnuled leaf morphotype, mixed sowings.

УДК 635.656:631.527

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАНТНЫХ ЛИНИЙ ГОРОХА, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДАМИ КЛЕТОЧНОЙ СЕЛЕКЦИИ

Г.В. СОБОЛЕВА, кандидат сельскохозяйственных наук
ФГБНУ «ВНИИ ЗЕРНОБОБОВЫХ И КРУПЯНЫХ КУЛЬТУР»

В статье представлены результаты изучения 19 регенерантных линий гороха различных морфотипов, полученных методами клеточной селекции. Показано преимущество регенерантных линий над исходными генотипами по водоудерживающей способности и общему содержанию воды в тканях. Выделены перспективные для селекции регенерантные линии.

Ключевые слова: горох, клеточная селекция, засухоустойчивость, регенеранты.

Среди абиотических факторов максимальный ущерб сельскохозяйственному производству в Российской Федерации наносит засуха, так как более 2/3 посевных площадей находятся в зоне недостаточного и неустойчивого увлажнения. В годы с сильными засухами снижение урожайности и валовых сборов зерна может достигать 40-60 % и более, по сравнению с благоприятными по увлажнению годами. При этом фиксируется повышение среднегодовых температур и резкое колебание водного и температурного режима в течение вегетации. По прогнозам периодичность повторения засух по годам будет только усиливаться [1]. Для снижения потерь урожая, вызванных засухой, необходимо создание высокопродуктивных засухоустойчивых сортов.

Сложности классической рекомбинантной селекции на устойчивость к засухе обусловлены, прежде всего, тем, что это комплексный признак, связанный с целым рядом физиологических особенностей растений. Сдерживающим фактором является также трудное сочетание в одном генотипе таких вступающих в противоречие признаков, как высокая продуктивность и засухоустойчивость [2].

Возможности традиционной селекции значительно расширились с развитием методов биотехнологии и возникновением нового направления – клеточной селекции *in vitro*, позволяющей расширить спектр исходного материала и активизировать процесс создания засухоустойчивых сортов на принципиально новом уровне.

Методы клеточной селекции наиболее активно используются для получения форм устойчивых к засухе основных злаковых культур: кукурузы [3], пшеницы [4], ячменя [5], риса [6]. Основная проблема, ограничивающая применение селективных систем для получения засухоустойчивых вариантов бобовых культур, связана с низкой эффективностью регенерации побегов из культивируемых изолированных тканей *in vitro*. Это обусловлено еще и тем, что селективные факторы, имитирующие *in vitro* стресс обезвоживания, оказывают достаточно сильное ингибирующее влияние на ткани и клетки, что приводит к частичной или полной потере способности к морфогенезу. Между тем, получение растений-регенерантов является ключевым фактором использования клеточных технологий в практической селекции. Попытки отбора соматических клеток и получения толерантных к недостатку воды форм бобовых были предприняты для люцерны [7], сои [8, 9], вигны [10]. В опубликованных работах показана главным образом только возможность проведения скрининга генотипов на устойчивость к осмотическому стрессу на уровне каллусных культур. Главный недостаток проведенных исследований - отсутствие данных о получении растений-регенерантов и, тем более, результатов оценки устойчивости регенерантов к засухе. Применительно к гороху основные методические подходы к проведению работ по клеточной селекции на устойчивость к засухе разрабатываются только во ВНИИЗБК. Разработана схема отбора осмоустойчивых каллусных клонов на селективных питательных средах, установлены стресс-факторы имитирующие *in vitro* осмотический стресс, и их эффективные концентрации. Подобраны регуляторы роста, необходимые для инициации побегообразования и получения растений-регенерантов [11, 12].

Цель исследований заключалась в сравнительном изучении регенерантных линий гороха, полученных в селективных системах *in vitro*, по физиологическим параметрам засухоустойчивости и урожайности семян.

Материал и методика исследований

Материалом для исследований служили регенерантные линии, полученные из резистентных к осмотическому стрессу каллусных клонов районированных сортов гороха и перспективных линий селекции ВНИИЗБК: Темп, Л-135-03 (белоцветковый, листочковый морфотип), Фараон, Л-03-109, Л-190-02 (белоцветковый, безлисточковый морфотип). Для имитации *in vitro* стрессового эффекта обезвоживания и отбора устойчивых каллусных клонов использовали питательные среды содержащие 20 % полиэтиленгликоля (ПЭГ) с молекулярной массой 6000 или 15мМ оксипролина. Регенеранты R₀, полученные после отбора на селективных средах были размножены и поколения R₄-R₆ изучали в полевом опыте в 2011-2013 гг. Опыты закладывали в севообороте лаборатории генетики и биотехнологии ВНИИЗБК. Посев проводили в последнюю декаду апреля в соответствии с погодными условиями. Регенерантные линии высевали сеялкой СКС-6-10. Учетная площадь делянки 7,5 м². Норма высева – 120 шт. всхожих семян на 1м². Регенерантные линии высевали в трех повторностях, рендомизированно. Контроль – оригинальные сорта и селекционные линии.

Необходимая сумма осадков для нормального развития и формирования высоких урожаев гороха в период от всходов до цветения должна составлять не менее 130-140 мм. В 2011 г. в мае (фаза посев-всходы) выпало всего 27,2 мм осадков. В период от цветения до созревания количество осадков значительно превосходило среднегодовалые показатели. В первой декаде мая 2012 г. выпало всего 5 мм осадков. В период развития от всходов до цветения выпало 90 мм осадков. Выпавшие в 1-2 декадах июня дожди позволили гороху компенсировать отставание в развитии. В течение вегетации растений гороха в 2013 г. осадки выпадали крайне неравномерно. В первой и второй декадах мая наблюдался существенный дефицит влаги. В конце третьей декады мая выпало почти две нормы осадков. Температурный фон в течение всех лет изучения превышал среднегодовалые показатели. Сложившиеся погодные условия явились естественным фоном для тестирования уровня засухоустойчивости регенерантных линий.

В процессе роста и развития растений проводили фенологические наблюдения. Тестовыми показателями устойчивости к засухе являлись: водоудерживающая способность растений и общее содержание воды в тканях. Водоудерживающую способность определяли в фазе бутонизации методом завядания срезанных растений [13]. Основные количественные показатели обрабатывались статистическими методами с использованием компьютерных программ Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и обсуждение

Основная задача растений в условиях водного и температурного стресса – поддержание достаточной оводненности тканей. Она может быть решена двумя путями: сокращением потерь воды или увеличением ее поступления из почвы.

Результаты исследований показали, что по такому значимому показателю водного режима растений, как водоудерживающая способность, среди регенерантных линий прошедших на этапе каллусной ткани отбор по осмоустойчивости, наблюдается значительное варьирование (табл.1).

Так, потери воды за 6 часов завядания растениями регенерантных линий сорта Темп колебались от 21,6 до 39,2 % (контроль – 31,1 %). При этом регенерантные линии (R-08-31 и R-08-32), полученные из каллусов резистентных к действию оксипролина, характеризовались более высокой способностью удерживать воду в процессе завядания в сравнении с линиями, отселектированными на средах с ПЭГ. Растения регенерантных линий R-08-31 и R-08-32 теряли соответственно 21,6 и 24,1 % воды от ее исходного содержания, что достоверно превысило контроль на 30,5 и 22,5 % соответственно.

Таблица 1

Устойчивость к обезвоживанию растений гороха и общее содержание воды в тканях, фаза бутонизации

Сорт, линия		Потери воды, %			Общее содержание воды в тканях, %		
		2012 г.	2013 г.	среднее	2012 г.	2013 г.	среднее
Темп	контроль	34,8	27,4	31,1	81,1	86,3	83,7
R-07-3	20%ПЭГ	51,2	27,2	39,2	84,6	85,7	85,2
R-08-4	20%ПЭГ	42,7	31,1	36,9	82,5	84,9	83,7
R-08-5	20%ПЭГ	33,2	28,2	30,7	82,0	86,1	84,1
R-08-6	20%ПЭГ	31,4	23,8	27,6	81,6	86,6	84,1
R-08-11	20%ПЭГ	33,8	26,6	30,2	83,5	86,5	85,0
R-08-12	20%ПЭГ	26,5	22,9	24,7	81,9	85,0	83,5
R-08-13	20%ПЭГ	26,6	25,1	25,9	81,1	85,3	83,2
R-08-14	20%ПЭГ	31,7	28,6	30,2	83,2	85,5	84,4
R-08-15	20%ПЭГ	31,3	29,4	30,4	82,3	85,8	84,1
R-08-43	20%ПЭГ	37,4	24,9	31,2	82,4	85,2	83,8
R-08-31	10 мМ ОП	24,3	18,8	21,6	83,0	85,0	84,0
R-08-32	10 мМ ОП	25,8	22,3	24,1	84,1	85,0	84,6
HCP ₀₅		6,1	4,2		1,7	1,0	
Л-135-03	контроль	28,6	20,3	24,5	80,8	83,8	82,3
R-07-11	20%ПЭГ	25,1	29,5	27,3	81,5	83,7	82,6
R-08-18	20%ПЭГ	22,5	17,0	19,8	82,5	83,8	83,2
HCP ₀₅		4,3	3,4		1,2	1,0	
Л-03-109	контроль	28,8	22,7	25,8	80,8	83,8	82,3
R-08-33	10 мМ ОП	24,9	20,6	22,8	77,8	81,1	79,5
HCP ₀₅		4,7	2,7		1,9	2,3	
Л-190-02	контроль	25,2	26,1	25,7	80,5	86,1	83,3
R-08-16	20%ПЭГ	25,1	22,8	23,9	81,0	85,0	83,0
HCP ₀₅		2,4	3,3		0,6	1,2	
Фараон	контроль	27,0	23,1	25,1	81,1	83,7	82,4
R-07-5	20%ПЭГ	25,5	22,0	23,8	81,3	83,9	82,6
R-08-53	15 мМ ОП	24,5	19,6	22,1	81,7	83,7	82,7
R-08-54	15 мМ ОП	28,0	26,6	27,3	81,0	83,9	82,5
HCP ₀₅		2,4	2,1		1,2	1,3	

Среди 10 регенерантных линий, полученных при использовании в качестве стресс фактора ПЭГ, наименьшие потери воды в сравнении с контролем (сорт Темп) были у регенерантных линий R-08-6 (27,6 %), R-08-12 (24,7 %), R-08-13 (25,9 %), максимальные у R-07-3 (39,2 %) и R-08-4 (36,9 %). Из остального материала следует выделить регенерантные линии R-08-18 (исходная селекционная линия Л-135-03) и R-08-53 (исходный сорт Фараон) достоверно превысившие по водоудерживающей способности исходные генотипы.

Важным результатом проведенного анализа, является то, что большинство растений-регенерантов, полученных *in vitro* из осмоустойчивых каллусов, сохранили высокие показатели по водоудерживающей способности, коррелирующей с засухоустойчивостью, и в семенном поколении до R₆.

На основании исследований по фундаментальным вопросам засухоустойчивости установлено, что при использовании для диагностики только метода завядания совершенно нивелируется роль корневой системы. В то же время общеизвестно, что горох может избегать губительного действия засухи за счет именно корневой системы проникающей в глубокие слои почвы. Показателем, позволяющим опосредованно оценить работу корневой системы, может служить общее содержание воды, обеспечивающее тургор и нормальное протекание физиологических процессов в растениях.

Анализ данных показал, что в условиях жесткого водного и температурного стресса, наблюдавшегося в 2012 году, практически у всех регенерантных линий общее содержание воды было выше, чем у исходных генотипов. В 2013 году содержание воды в тканях у всех изученных генотипов было выше, чем в предыдущем году, что можно объяснить обильным количеством осадков выпавших в конце мая. Содержание воды в тканях растений регенерантных линий в 2013 г. было на уровне исходных генотипов. Вероятно, это связано с тем, что регенерантные линии, полученные методом клеточной селекции, проявляют свое преимущество к засухе лишь в условиях водного дефицита.

С целью выявления генотипических и средовых различий количественных и качественных признаков был проведен сравнительный анализ регенерантных линий и исходных генотипов по основным хозяйственно значимым признакам.

Анализ морфологических признаков показал, что все регенерантные линии сорта Темп и Фараон оказались более короткостебельными в сравнении с исходным сортом (табл. 2). Так, длина стебля сорта Темп в среднем за годы изучения составила 48,8 см, у регенерантных линий была в пределах от 36,8 до 44,5 см. У растений регенерантных линий генотипов Л-135-03, Л-190-02 и Л-03-109 наблюдалась обратная картина: они были более длинностебельными.

Анализ по основным показателям продуктивности показал, что в среднем за 2011...2013 гг. растения регенерантных линий сорта Темп сформировали большее число семян в сравнении с контролем. Значение признака варьировало от 14,2 до 17,1 шт. (контроль – 14,4 шт.). По семенной продуктивности регенерантные линии были на уровне исходного сорта Темп. Регенерантные линии R-08-31 и R-08-32, полученные в селективных системах с оксипролином, оказались более крупносемянными и превысили как исходный сорт, так и регенерантные линии, полученные на средах с ПЭГ. Масса 1000 семян сорта Темп составила 266,0 г, у регенерантных линий этот показатель составил 283,6 г (R-08-31) и 277,2 г (R-08-32).

Регенерантные линии генотипов Л-03-109 (R-08-33), Л-190-02 (R-08-16) и сорта Фараон (R-07-5, R-08-53, R-08-54), полученные в селективных системах с ПЭГ и оксипролином, по основным показателям продуктивности были на уровне или несколько уступали исходным генотипам, но формировали более крупные семена.

Регенерантные линии, полученные из резистентных к ПЭГ каллусных культур, превысили селекционную линию Л-135-03 по таким показателям урожайности как число бобов, число семян на растение и семенной продуктивности, но уступили исходной линии по крупности семян. Масса 1000 семян линии Л-135-03 составила 266,1 г, у регенерантных линий 245,0 г (R-07-11) и 244,1 г (R-08-18).

Таблица 2

Показатели продуктивности регенерантных линий гороха в сравнении с исходными генотипами (в среднем за 2011-2013 гг.)

Сорт, линия	Длина стебля, см	Число бобов, шт.	Число семян, шт.	Масса семян, г/раст.	Масса 1000 семян, г	К _{хоз} , %	Урожайность, т/га
Темп	48,8	3,8	14,4	3,8	266,0	53,3	2,93
R-07-3	44,5	4,2	17,1	4,5	263,8	55,2	2,69
R-08-4	38,4	3,8	14,0	3,4	248,6	55,2	2,02
R-08-5	40,5	3,8	15,1	4,0	263,2	55,7	2,21
R-08-6	39,9	4,0	15,2	4,0	267,9	55,7	2,55
R-08-11	41,0	4,3	16,5	4,3	265,6	56,7	2,70
R-08-12	43,8	3,7	15,3	4,0	262,0	54,5	2,56
R-08-13	40,3	3,8	15,9	4,2	256,8	57,0	2,43
R-08-14	36,8	3,5	14,3	3,6	254,4	55,4	2,25
R-08-15	38,3	3,7	16,0	3,8	240,0	55,7	2,16
R-08-43	41,9	3,9	15,9	4,2	272,2	56,6	2,61
R-08-31	40,4	4,2	16,3	4,6	283,6	58,5	2,38
R-08-32	40,3	3,9	14,2	3,9	277,2	57,3	2,42
Л-135-03	48,6	3,9	15,5	4,1	266,1	53,2	2,96
R-07-11	55,0	4,1	19,1	4,7	245,0	54,1	3,23
R-08-18	54,7	4,4	19,4	4,8	244,1	53,9	3,15
Л-03-109	53,4	4,6	19,4	4,1	212,1	52,0	2,56
R-08-33	55,2	4,0	18,4	4,2	226,1	53,5	2,24
Л-190-02	49,4	4,2	16,8	3,6	213,2	47,8	2,46
R-08-16	54,8	3,9	15,9	3,6	223,7	46,9	2,52
Фараон	60,6	4,9	17,7	4,0	226,6	50,0	3,18
R-07-5	57,0	4,4	14,1	3,5	246,7	51,6	2,74
R-08-53	53,2	4,1	15,7	3,7	237,4	52,0	2,63
R-08-54	51,1	3,9	15,7	3,5	226,5	50,6	2,63

В сравнении с исходными генотипами все изученные регенерантные линии имели более высокие показатели коэффициента хозяйственной эффективности (К_{хоз}), признака, определяющего долю семян в общей надземной биомассе.

Средняя урожайность семян регенерантных линий за три года изучения варьировала от 2,02 до 3,23 т/га. Регенерантные линии R-07-11 (3,23 т/га) и R-08-18 (3,15 т/га) превзошли по урожайности не только оригинальную линию Л-135-03 (2,96 т/га), но и были на уровне стандарта Фараон (3,18 т/га).

Таким образом, полученные результаты показали, что селективные системы с ПЭГ и оксипропином могут быть использованы для получения засухоустойчивых вариантов гороха. Выделены перспективные для селекции регенерантные линии, полученные в результате методов клеточной селекции, превышающие оригинальные сорта по показателям засухоустойчивости (водоудерживающая способность, общее содержание воды) и элементам продуктивности и урожайности семян.

Литература

1. Глобальные изменения климата и прогноз рисков в сельском хозяйстве России // под ред. А.Л. Иванова, В.И. Кирюшина. – М.: Россельхозакадемия, 2009. – 518с.
2. Кумаков В.А., Игошин А.П., Евдокимова О.Е., Игошина Г.Ф. Засуха и продукционный процесс в посевах яровой пшеницы // Сельскохозяйственная биология, 1994. – №3. – С.105-114.
3. Аль-Холани Х.А., Тайома В.И.М., Долгих Ю.И. Получение растений кукурузы с повышенной устойчивостью к засухе путем клеточной селекции на среде с маннитом // Биотехнология, 2010. – №1. – С.60-67.

4. Круглова Н.Н. Лабораторная оценка регенерантов пшеницы, полученных в экспериментальной селективной эмбриокультуре *in vitro* // Пермский аграрный вестник. – Пермь, 2013. – №1(1). – С.35-38.
5. Широких И.Г. и др. Физиолого-биохимические показатели и продуктивность растений ячменя, регенерированных из каллуса в селективных системах // Доклады РАСХН, 2011. – №2. – С.6-9.
6. Белянская С.Л., Шамина З.Б., Кучеренко Л.А. Морфогенез в клонах риса, резистентных к стрессовым факторам // Физиология растений, 1994. – Т.41, №4. – С.573-577.
7. Dragiiska R., Djilianov D., Denchev P., Atanassov A. In vitro selection for osmotic tolerance in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) // Bulg. J. Plant Physiology, 1996. – V.22 (3-4). – P.30-39.
8. Sakthivelu G. and al. Drought-induced alterations in growth, osmotic potential and *in vitro* regeneration of soybean cultivars // Gen. Appl. Plant Physiology, 2008. – V.34 (1-2). – P.103-112.
9. Wahyu Windoretno, Estri Laras Arumingtyas, Nur Basuki, Andy Soegianto. Drought resistance selection on soybean somaclonal variants // J. Basic Appl. Sci. Res., 2012. – №2(8). – P.7994-7997.
10. Priyanka Soni, Rizwan M, Bhatt K.V., Mohapatra T, Govind Sinh *In-vitro* response of *Vigna aconitifolia* to drought stress induced by PEG – 6000 // J. of Stress Physiology and Biochemistry, 2011. – V.7. - №3. – P.108-121.
11. Соболева Г.В. Регенерация растений гороха (*Pisum sativum* L.) в культуре соматических тканей, резистентных к осмотическому стрессу // Ученые записки Орловского государственного университета. – Орел, 2010. – №2. – С.254-258.
12. Соболева Г.В., Суворова Г.Н., Кондыков И.В., Зотиков В.И. Метод клеточной селекции гороха на устойчивость к абиотическим факторам среды. Методические рекомендации. – М., 2011. – 24 с.
13. Практикум по физиологии растений // под ред. Третьякова Н.Н. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.

COMPARATIVE ESTIMATION OF REGENERATED PEA LINES OBTAINED WITH USE OF CELL SELECTION METHODS

G.V. Soboleva

FGBNU «THE ALL-RUSSIA RESEARCH INSTITUTE OF LEGUMES AND GROAT CROPS»

Abstract: Nineteen regenerated pea lines of various morphotypes obtained with use of cell selection methods were studied. Advantage of regenerated lines under initial genotypes on water-retaining capacity and water content in tissues was demonstrated. Perspective regenerated lines for pea breeding were obtained.

Keywords: pea, cell selection, drought resistance, regenerants.

УДК 635.656.631.526.32.631.8

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И МИКРОУДОБРЕНИЙ НА ПОВЫШЕНИЕ И СТАБИЛИЗАЦИЮ УРОЖАЯ ЗЕРНА ГОРОХА

М.Т. ГОЛОПЯТОВ, кандидат сельскохозяйственных наук
ФГБНУ «ВНИИ ЗЕРНОБОБОВЫХ И КРУПЯНЫХ КУЛЬТУР»

В статье отражены результаты исследований по изучению обработки семян гороха перед посевом раствором гумата натрия и комплексного микроудобрения аквамикс, содержащего в хелатной форме элементы на урожай, качество и технологичность сортов гороха нового поколения. Показана положительная роль обработки семян на урожайность. Прибавка урожая достигала 0,3 т/га (12 %). Выявлены генотипические различия сортов гороха на обработку, что нужно учитывать в технологии их возделывания. Установлено, что обработка семян повышала содержание и сбор белка с единицы площади. Экономический анализ изучаемых факторов показал их высокую эффективность.

Ключевые слова: горох, гумат натрия, микроудобрение, урожай, белок, экономическая эффективность.

Основные тенденции мирового производства продукции растениеводства, в том числе и гороха, связываются, главным образом со снижением техногенного и антропогенного воздействия на агрофитоценоз и высоким темпом роста уровня продуктивности. Возрастают и требования по-