

РЕЗУЛЬТАТЫ ВЕДЕНИЯ ПЕРВИЧНОГО СЕМЕНОВОДСТВА В ФГБНУ «АНЦ «ДОНСКОЙ» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Т.И. Фирсова, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории первичного семеноводства и семеноведения, ORCID ID: 0000-0003-0582-4124;
М.М. Копусь, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической оценки селекционного материала и качества зерна, ORCID ID: 0000-0001-8824-1033;
Ю.Г. Скворцова, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории первичного семеноводства и семеноведения, ORCID ID: 0000-0002-1490-2422;
Г.А. Филенко, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории первичного семеноводства и семеноведения, ORCID ID: 0000-0003-4271-0003
ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»,
347740, Ростовская обл., г. Зерноград, Научный городок, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

В работе представлены результаты изучения и оценка сортов озимой мягкой пшеницы в первичном семеноводстве (2019–2021 гг.) с использованием метода электрофореза. Для сохранения сортовой чистоты у различных сортов применялись различные методы ведения первичного семеноводства. Основным в полевых условиях является метод закладки питомников испытания потомств с двухгодичной оценкой семей по потомствам (ПИП-1 и ПИП-2), в лабораторных условиях использовался метод электрофореза, где изучался полиморфизм запасных белков глиаина у пшеницы. Целью исследований являлась оценка эффективности применения метода электрофореза запасных белков, установления сортовой чистоты и принадлежности к сорту семян озимой пшеницы в первичном семеноводстве. На основании проведенных исследований было установлено, что у сортов озимой мягкой пшеницы возможно изменение биотипного состава из гетерогенного в мономорфный в ПИП-1 путем отбора семей по морфологическим признакам (метод полевой апробации), а введение в семеноводство метода электрофореза дает возможность не только идентифицировать сорта на изменение биотипного состава глиаина в сортах, но и проследить, в каком соотношении целенаправленно в первичном семеноводстве необходимо сохранять семьи, исключая мономорфность в гетерогенных сортах. Все сорта характеризовались индивидуальным набором глиадинокодирующих локусов, что позволяет при использовании электрофореза по запасным белкам проводить идентификацию любого сорта и определять его сортовую чистоту.

Ключевые слова: сорт, электрофорез, биотип, аллель, глиадин, блок компонентов.

Для цитирования: Фирсова Т.И., Копусь М.М., Скворцова Ю.Г., Филенко Г.А. Результаты ведения первичного семеноводства в ФГБНУ «АНЦ «Донской» с использованием метода электрофореза // Зерновое хозяйство России. 2022. Т. 14. № 2. С. 59–63. DOI: 10.31367/2079-8725-2022-80-2-59-63.



RESULTS OF CONDUCTING THE PRIMARY SEED PRODUCTION USING THE METHOD OF ELECTROPHORESIS IN THE FSBSI ARC “DONSKOY”

T.I. Firsova, Candidate of Agricultural Sciences, leading researcher of the laboratory for primary seed production and seed study, ORCID ID: 0000-0003-0582-4124;
M.M. Kopus, Doctor of Biological Sciences, leading researcher of the laboratory for biochemical estimation of breeding material and seed quality, ORCID ID: 0000-0001-8824-1033;
Yu.G. Skvortsova, Candidate of Agricultural Sciences, senior researcher of the laboratory for primary seed production and seed study, ORCID ID: 0000-0002-1490-2422;
G.A. Filenko, Candidate of Agricultural Sciences, senior researcher of the laboratory for primary seed production and seed study, ORCID ID: 0000-0003-4271-0003
Agricultural Research Center “Donskoy”,
347740, Rostov region, Zernograd, Nauchny Gorodok, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

The current paper has presented the study and estimation results of winter bread wheat varieties in primary seed production (2019–2021) based on the method of electrophoresis. In order to maintain varietal purity in different varieties there were used different methods of primary seed production. The main method was the method of laying down the plots (a field testing method) for testing progeny with a two-year estimation of families according to progeny (PIP-1 and PIP-2). In laboratory conditions, there was used the method of electrophoresis, where there was studied the polymorphism of wheat gliadin reserve proteins. The purpose of the study was to estimate the efficiency of the method of electrophoresis on reserve proteins, to develop varietal purity and belonging of winter wheat seeds to the variety in primary seed production. On the basis of the conducted study, there was found that for winter bread wheat varieties there was possible to change the biotype composition from heterogeneous to monomorphic in PIP-1 by selecting families according to morphological traits (a field testing method), and the introduction of the method of electrophoresis into seed production made it possible not only to identify varieties on changes in the biotype gliadin composition in the varieties, but also to track the ratio in which it was necessary to purposefully preserve families in primary seed produc-

tion, excluding monomorphism in heterogeneous varieties. All varieties were characterized by an individual set of gliadin-coding loci, which allowed using electrophoresis on reserve proteins to identify any variety and its varietal purity.

Keywords: *variety, electrophoresis, biotype, allele, gliadin, block of components.*

Введение. В семеноводстве существует несколько методов определения сортовой чистоты семян – это полевая апробация, грунт-контроль и сортовой лабораторный анализ. Метод полевой апробации является самым распространенным и применяемым сегодня, но при его использовании проводится оценка по морфологическим признакам растения, что является субъективной оценкой так как сортовую чистоту можно определить только к моменту уборки. Грунтконтроль более точный метод, но он больше подходит для спорных и арбитражных целей, а также в научных учреждениях, где высевают семена проводят на делянках в поле с последующими фенологическими наблюдениями за растениями на протяжении всего вегетационного периода. Метод можно считать трудоемким, энергетически затратным и не устраняющим недостатки полевой апробации, связанные с возможностью засорения семян.

Из лабораторных методов сортового контроля наиболее удобным является идентификация сортов по электрофоретическому спектру глиадинов – запасных белков семян. Метод полевой апробации не дает такой объективной оценки, как метод электрофореза.

Решающую роль в производстве оригинальных семян и обеспечении ими сельхозтоваропроизводителей играют селекция и семеноводство. Селекция направлена на создание высокопластичных, с максимальной урожайностью в различных климатических зонах сортов (Nekrasova et al., 2021). Семеноводство условно делят на первичное и вторичное. Первичное семеноводство – это производство высоко репродуктивных семян, к ним относятся оригинальные семена питомников испытания потомств (ПИП-1 и ПИП-2) с применением метода индивидуально-семейственного отбора, а также питомников размножения (ОС(ПР-1) и ОС(ПР-2). Вторичное семеноводство направлено на размножение элитных семян (ЭС) и последующих репродукций (РС 1,2 и т.д.) (Березкин и др., 2012).

Для контроля и сохранения сортовой чистоты у сортов на том уровне, как их передают селекционеры, применяют различные методы ведения первичного семеноводства. Основным методом в полевых условиях является закладка питомников испытания потомств с двухгодичной оценкой семей по потомствам (ПИП-1 и ПИП-2), в лабораторных условиях используют метод электрофореза, где изучается полиморфизм запасных белков глиадина у пшеницы. Многие современные сорта озимой пшеницы являются гетерогенными и состоят из нескольких биотипов, отличающихся по нескольким аллелям. Такие сорта в процессе семеноводства сложнее поддерживать, так как составляющие их биотипы отличаются

ся по биологическим свойствам, но практически не отличаются по морфологическим признакам.

Поэтому основной целью исследований являлась оценка эффективности применения метода электрофореза запасных белков, для установления сортовой чистоты и принадлежности биотипного состава к сорту семян озимой пшеницы в первичном семеноводстве.

Материалы и методы исследований. Исследования выполнены в 2019–2021 гг. в лаборатории первичного семеноводства и семеноведения в питомнике испытания потомств второго года на полях научного севооборота ФГБНУ «АНЦ «Донской».

Материалом для исследования послужили 13 сортов озимой мягкой пшеницы селекции ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской», используемые в производстве с 2001 г. и до настоящего времени.

Подготовка почвы, посев и уходные мероприятия за растениями озимой пшеницы выполнялись согласно рекомендациям зональных систем земледелия Ростовской области (2013 г.). Посев питомника испытания потомств второго года (ПИП-2) проводили фракционной сеялкой ССК-7 на глубину 5–6 см по предшественнику черный пар, учетная площадь делянки – 10 м². Уборку урожая осуществляли комбайном Wintersteiger Classic в фазу полной спелости.

Учеты, наблюдения и анализы проводили по Методике государственной комиссии по испытанию и охране селекционных достижений (1985) и методике полевого опыта (Доспехов, 2014). Контроль компонентного состава глиадина озимой пшеницы методом электрофореза осуществляли по рекомендации (Копусь, 1988), величину седиментационного осадка определяли по методике в изложении М.М. Копусь и др. (2010).

Результаты и их обсуждение. Всего за годы исследования (2019–2021) было проанализировано методом электрофореза 13 сортов озимой мягкой пшеницы, а их количество в первичном семеноводстве ежегодно может меняться в зависимости от потребности в семенах этих сортов.

Большое разнообразие сортов в питомниках испытания потомств необходимо для дальнейшего размножения оригинальных семян, их сортосмены и сортообновления.

Этапом первичного семеноводства является метод индивидуально-семейственного отбора с двухгодичной оценкой семей по потомству в питомнике испытания потомств (ПИП-1 и ПИП-2).

В полевых условиях браковка семей проводится по морфологическим признакам, в лабораторных условиях семьи браковались как по массе 1000 семян, так и по весу семьи.

Делянки со значительным отклонением выбраковывались.

Семьи, оставленные на посев, проверяли на соответствие сорту и наличие примеси в лаборатории биохимической оценки селекционного материала и качества зерна.

Электрофоретический спектр глиаина пшеницы контролируется локусами 1A, 1B, 1D, 6A, 6B и 6D хромосом. По данным М.М. Копусь (1988), многие сорта озимой мягкой пшеницы могут иметь идентичные электрофореграммы глиаина, и их нужно различать по другим признакам.

Так, все высеваемые сорта в ПИП-1, семьи которых в полевых условиях отклонялись по морфологическим признакам, по высоте

растений и устойчивости к болезням, выбраковывали. Полевая браковка составляла от 15 до 50%. Если же возникают вопросы по апробационным признакам высеваемых сортов, то проводят проверку семей на наличие примеси в ПИП-1 по электрофорезу. В таблице 1 приведены данные комплексной оценки встречаемости аллельных блоков компонентов глиаина семей на примере сорта Ермак, оставленных после браковки. Величина признака «SDS седиментация» отражает такой показатель, как содержание клейковины в зерне. В исследованиях установлено, что биотипы, отличающиеся по одному из аллелей, имели SDS седиментацию выше, чем у исходного сорта.

Таблица 1. Оценка семей озимой пшеницы сорта Ермак в ПИП-1 по электрофорезу
Table 1. Estimation of winter wheat families of the variety 'Ermak' in PIP-1 by electrophoresis

Семьи, оставленные после браковки в поле		Аллели глиаина по локусам хромосом						SDS седиментация, мл
кол-во, шт.	%	1A	1B	1D	6A	6B	6D	
Исходный сорт		3	1	7+1	3	1	1	47–69
17	47,2	3	1	7	3	1	1	55–58
18	50,0	3	1	1	3	1	1	50–54
1	2,8	3+4	1	4+1	3	1	1	65

Исходной формой сорта Ермак является гетерогенный биотип и используется при электрофорезе как стандарт. Семьи в питомнике ПИП-1 разделились по одному из аллелей и оказались мономорфными: Gld1D7 (47,2%), который отвечает за качество, морозостойкость и устойчивость к болезням, и Gld1D1 (50,0%), влияющий на продуктивность сорта. В этом случае также была выделена примесь, не отличающаяся по морфологическому признаку, но в биотипе присутствовали аллели глиаина Gld1A4 и Gld1D4, не соответствующие этому сорту. Такие семьи в семеноводстве выбраковываются в лабораторных условиях. Структуру процентного соотношения биотип-

ного соотношения в сорте необходимо контролировать в процессе семеноводства в питомниках испытания потомств по показателям электрофореза.

Оставшиеся семьи, если сорт выравнен и электрофореграмма глиаина по формуле идентична исходной, пересеваются в ПИП-2 для дальнейшего размножения семян.

Исследования, проведенные в ПИП-2 (табл. 2), показали, что часть гетероморфных сортов при их репродукции приобретали мономорфность, а SDS седиментация увеличивалась от 1 мл у сорта Изюминка до 8 мл у сорта Лидия. У сортов Ермак и Капризуля значения SDS седиментации составили 4 мл.

Таблица 2. Электрофореграмма глиаина сортов озимой мягкой пшеницы ПИП-2
Table 2. Electrophoregram of gliadin in the winter bread wheat varieties in PIP-2

Сорт (год передачи на Государственное сортоиспытание)	Аллели глиаина по локусам хромосом						SDS седиментация, мл
	1A	1B	1D	6A	6B	6D	
Ермак (1997) ПИП-2	3	1	7+1	3	1	1	47
	3	1	7	3	1	1	51
Станичная (1998) ПИП-2	4	1	4	1	1	1	49
	4	1	4	1	1	1	58
Аскет (2007) ПИП-2	4+5	1	1+4(7)	1+3	1	1	50
	4	1	1+4(7)	1	1	1	52
Изюминка (2008) ПИП-2	3	1	1+7	1	1	1	53
	3	1	1	1	1	1	54
Лидия (2010) ПИП-2	3	1	1+7	1	1	1	42
	3	1	1	1	1	1	50
Капризуля (2012) ПИП-2	3	1	1+7	3	1	1	50
	3	1	1	3	1	1	54

Сорт (год передачи на Государственное сортоиспытание)	Аллели глиаина по локусам хромосом						SDS седиментация, мл
	1A	1B	1D	6A	6B	6D	
Лилит (2012)	3	1	1	3	1	1+2	55
ПИП-2	3	1	1	3	1	2	47
Краса Дона (2014)	3	1	7	1	1	1	56
ПИП-2	3	1	7	1	1	1	49
Этюд (2015)	4	1	7	1	1	1	54
ПИП-2	4	1	7	1	1	1	50
Донская степь (2016)	4	1	7	1	1	1	55
ПИП-2	4	1	7	1	1	1	50
Юбилей Дона (2017)	4	1	7	1	1	1	61
ПИП-2	4	1	7	1	1	1	57
Полина (2017)	3	1	7	1	1	1	60
ПИП-2	3	1	7	1	1	1	55
Амбар (2018)	3	3	1	3	1	1	43
ПИП-2	3	3	1	3	1	1	49

Как правило, работа в семеноводстве направлена на сохранение чистосортности сортов. В питомнике семьи после браковки остаются с более продуктивными линиями, что ведет к мономорфным линиям у изначально гетерогенных сортов. Это происходит из-за отбора в ПИП-1 в лабораторных условиях деленок с более высокой массой 1000 зерен и продуктивностью семьи.

Сорта, представленные в ПИП-2, являлись идентичными исходным, а полиморфные – более продуктивному биотипу исходных.

На основании проведенных исследований было установлено, что у современных сортов возможно изменение биотипного состава одного и того же сорта, репродуцируемого в течение нескольких лет. У сортов Изюминка, Лидия, Капризуля преобладание аллеля Gld1D1 сказывается на более высокой урожайности (связано это с отбором более продуктивных семей сорта в ПИП-1) и морозостойкости. Сорт Ермак, преобразовал аллель Gld1D7+1 в чистотинейный Gld1D7, который сохраняет качество, морозостойкость и устойчивость к болезням. Гетерогенность у сорта Аскет сохранилась

на этапе семеноводства, но изменения произошли по одному из аллелей Gld1A4+5, он стал чистым Gld1A4.

В процессе семеноводства можно улучшить гетерогенные сорта либо устойчиво сохранять состав их биотипов путем ежегодной проверки семей в ПИП-1 методом электрофореза и контролировать процентное соотношение линий.

Выводы. Метод электрофореза является одним из перспективных в семенном контроле для идентификации видовых и сортовых примесей, которые при визуальной оценке невозможно отличить по морфологическим признакам. Плюсом метода является его доступность, высокая экономическая целесообразность по сравнению с другими биохимическими методами. Спектры электрофореза запасных белков практически не зависят ни от условий выращивания, ни от условий и длительности хранения семян.

Первичное семеноводство сортов озимой мягкой пшеницы должно вестись с учетом состава аллельных блоков глиаина с возможной изменчивостью некоторых хозяйственно ценных признаков.

Библиографические ссылки

1. Березкин А.Н., Малько А.М., Чередниченко М.Ю. Пути развития семеноводства и оценки качества семян в мире: современное состояние и перспективы // Доклад ТСХА. 2012. № 284, ч. 1. С. 126–129.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., перераб. и доп. Стереотип. изд. М.: Альянс, 2014. 351с.
3. Копусь М.М., Нецветаев В.П., Копусь Е.М., Маркарова А.Р., Нецветаева О.Р. Экспресс-методы оценки селекционного материала пшеницы по качеству зерна // Достижения науки и техники АПК. 2010. № 1. С. 19–21.
4. Nekrasova O.A., Kravchenko N.S., Marchenko D.M., Nekrasov E.I. Estimation of grain productivity and biochemical indicators of the winter bread wheat varieties depending on the forecrop // E3S Web of Conferences. 2021. V. 273. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202127301027>.

References

1. Berezkin A.N., Mal'ko A.M., Cherednichenko M.Yu. Puti razvitiya semenovodstva i otsenki kachestva semyan v mire: sovremennoe sostoyanie i perspektivy [The ways of developing seed production and estimating the quality of seeds in the world: current state and prospects] // Doklad TSKhA. 2012. № 284, ch.1. S. 126–129.
2. Dospekhov B.A. Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoi obrabotki rezul'tatov issledovaniy) [Methodology of a field trial (with the basics of statistical processing of the study results)]. 5-e izd., pererab. i dop. Stereotip. izd. M.: Al'yans, 2014. 351s.

3. Kopus' M.M., Netsvetaev V.P., Kopus' E.M., Markarova A.R., Netsvetaeva O.R. Ekspress-metody otsenki selektsionnogo materiala pshenitsy po kachestvu zerna [Express methods for estimating wheat breeding material according to grain quality] // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2010. № 1. S. 19–21.

4. Nekrasova O.A., Kravchenko N.S., Marchenko D.M., Nekrasov E.I. Estimation of grain productivity and biochemical indicators of the winter bread wheat varieties depending on the forecrop // E3S Web of Conferences. 2021. V. 273. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202127301027>.

Поступила: 14.02.22; доработана после рецензирования: 18.03.22; принята к публикации: 22.03.22.

Критерии авторства. Авторы статьи подтверждают, что имеют на статью равные права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторский вклад. Фирсова Т.И. – концептуализация исследований, анализ данных и их интерпретация, подготовка рукописи; Копусь М.М. – биохимический анализ; Скворцова Ю.Г., Филенко Г.А. – проведение полевого опыта.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.