

УДК 633.11

Е.Д. Никитина, Л.П. Хлебцова, Г.Г. Соколова

Создание источников устойчивости яровой пшеницы к воздействию никеля методами клеточной селекции *in vitro*

E.D. Nikitina, L.P. Khlebцова, G.G. Sokolova

The Development of Ni-resistance Sources of Spring Wheat by Cell Selection *in vitro*

Выявлен меж- и внутривидовой полиморфизм по регенерационной способности тестируемых сортов мягкой и твердой пшеницы на нагрузки ионов никеля в селективной среде *in vitro*. Установлен нелинейный характер взаимосвязей между частотой регенерации и концентрацией селективного агента.

Ключевые слова: мягкая пшеница, твердая пшеница, тяжелые металлы, незрелые зародыши, селективная среда, селективный агент, каллус, отбор, регенерант.

Сокращение вредных выбросов во внешнюю среду, в частности тяжелых металлов, и снижение их влияния на организм человека являются актуальными проблемами современности. Их решение возможно на основе двух подходов — техногенного и биологического. Экономически и экологически безупречен биологический подход, цель которого — выявление из имеющегося ассортимента устойчивых видов и сортов растений, а также создание с помощью селекции генотипов, адаптированных к воздействию вредных веществ [1–3]. Расширение генотипического разнообразия сельскохозяйственных культур по устойчивости к тяжелым металлам возможно за счет использования направленной селекции клеточных клонов и растений-регенерантов в условиях *in vitro*. Исследования в этом направлении только начинаются и связаны с оценкой принципиальной возможности создания стрессоустойчивых клеточных линий и регенерантов в культуре ткани на селективных средах [4].

Целью настоящей работы явилась оценка меж- и внутривидового полиморфизма яровой мягкой и твердой пшеницы по способности к каллусо- и морфогенезу на селективных средах при различных нагрузках никеля в условиях *in vitro*.

В качестве эксплантов использовали незрелые зародыши, донорами которых являлись сорта мягкой (Алтайская 50 (Алт.50), Новосибирская 67 (Нов.67), Чайниз Спринг (Ч. С.)) и твердой яровой пшеницы: Алтайка, Алтайская нива (Алт.нива) с известной степенью устойчивости к изучаемому металлу на уровне растений и известной реакцией на условия *in vitro*. Селективной системой служила среда Линсмайер и Скуга [5]. Поллютант вносили в иницилирующую питательную среду в виде уксуснокислой соли в диапазо-

Inter- and intraspecies polymorphism on regeneration ability among bread and durum wheat varieties tested to Ni-loads in the selection medium *in vitro* was established. Non-linear relationship between the frequency of regeneration and the Ni-concentration was stated.

Key words: bread wheat, durum wheat, heavy metals, immature embryos, selection medium, selection agent, callus, selection, regenerant.

не концентраций 0–20 мг/л с шагом различия 1–2 мг/л. Реакцию клеточных культур оценивали по накоплению сухой биомассы и частоте регенерации. Всего испытано 18 вариантов сред, пассировано 3,6 тыс. эксплантов, повторность эксперимента десятикратная. Статистическую обработку данных проводили методом двухфакторного дисперсионного анализа.

Выполненное исследование позволило установить нелинейную зависимость между накоплением массы сухого вещества каллуса и дозой никеля в питательной среде. С повышением концентрации никеля в среде до 1 мг/л происходило увеличение биосинтеза органических веществ (рис. 1). В среднем сухой вес каллуса составил 6,3 мг для мягкой и 10,6 мг — для твердой пшеницы. Дальнейший рост дозы селективного агента приводил к снижению накопления сухого вещества. Однако при концентрации металла в интервале от 4 до 6 мг/л вновь активизировались процессы биосинтеза в клетках. Стабильное уменьшение биомассы имело место с дозы 12 мг/л (рис. 1).

Дисперсионный анализ данных показал существенность влияния всех изучаемых факторов (генотип, концентрация ионов никеля и их взаимодействие) на изменчивость сухого веса каллуса мягкой пшеницы (см. таблицу). Для сортов твердой пшеницы значимо лишь влияние уровня концентрации никеля в среде. Анализ доли вклада в общую вариабельность признаков свидетельствует о том, что процесс накопления сухой биомассы в большей степени определяется взаимодействием «генотипы–концентрации» (36,5%) (табл.). Влияние факторов «генотипы» и «концентрации» проявилось в равной мере: 13,7 и 14,0% соответственно. Изменчивость сухого веса каллуса твердой пшеницы на 24% зависела от дозы никеля в субстрате.

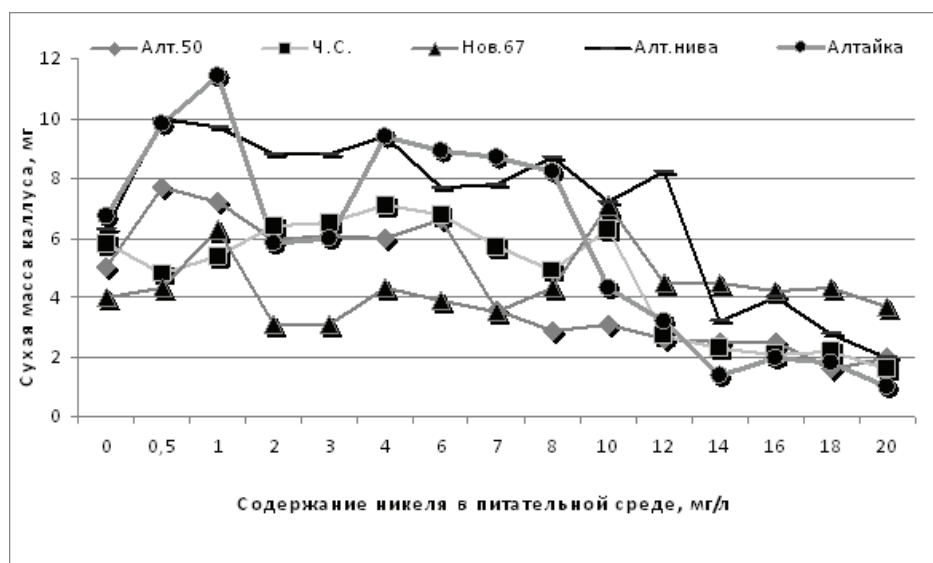


Рис. 1. Накопление сухой биомассы каллуса яровой мягкой и твердой пшеницы в зависимости от концентрации никеля в питательной среде

Влияние генотипов и концентраций ионов никеля в питательной среде на накопление сухой биомассы каллуса *T. aestivum* и *T. durum*

Источник вариации	Масса сухого каллуса, мг			
	мягкой пшеницы		твердой пшеницы	
	Фф.	P (%)	Фф.	P (%)
Генотипы	17,3**	13,7	0,2	-
Концентрации	3,9**	14,0	2,4*	24,1
Взаимодействие	5,1**	36,5	0,6	-

Примечание: Фф. — фактическое значение F-критерия по фактору; P — доля вклада фактора в общую изменчивость; **, * — достоверно при 1 и 5%-ном уровне значимости соответственно.

Эффективность использования любого метода культуры тканей и клеток определяется в первую очередь возможностью получения растений-регенерантов [6; 7]. Данные по частоте регенерации пшеницы представлены на рисунке 2.

Морфогенетическая реакция на селективный агент у сортов мягкой и твердой пшеницы различна. Если клеточные культуры *T. durum* способны регенерировать растения при концентрации никеля 10 мг/л, то для некоторых сортов мягкой пшеницы уже 2 мг/л его блокируют продуцирование соматклонов.

Частота регенерации каллусных культур мягкой пшеницы во всех опытных вариантах была ниже, чем в контроле, и зависела от дозы никеля. Резкое уменьшение выхода растений наблюдалось в диапазоне концентраций от 3 до 7 мг/л. Увеличение нагрузки никеля до 8–10 мг/л способствовало повышению частоты регенерации у всех тестируемых сортов.

Клеточные линии твердой пшеницы при невысоких дозах селективного агента (0,5–1,0 мг/л) повышали уровень регенерации. Сорт Алтайская нива реаги-

ровал с некоторым запозданием. Так, если для сорта Алтайка эффективными явились концентрации никеля 0,5; 4 и 8 мг/л, то для Алтайской нивы — 1; 6 и 10 мг/л. Регенерационные процессы равны нулю при повышении концентрации с 12 до 20 мг/л, исключение составляет Алтайская нива (73,3%). В таком случае следует использовать селективные системы с уровнем фактора ниже порогового значения.

Таким образом, наблюдается меж- и внутривидовой полиморфизм по регенерационной способности тестируемых сортов пшеницы на нагрузки ионов никеля в питательной среде. Нелинейный характер взаимосвязи между частотой регенерации и концентрацией селективного агента затрудняет выбор сублетальной дозы никеля, которая обычно используется при клеточной селекции. Поэтому при выполнении исследований по отбору устойчивых к никелю клеточных линий в культуре ткани пшеницы следует ориентироваться на дозы металла, при которых возможна регенерация у сортов, представляющих интерес для селекции.

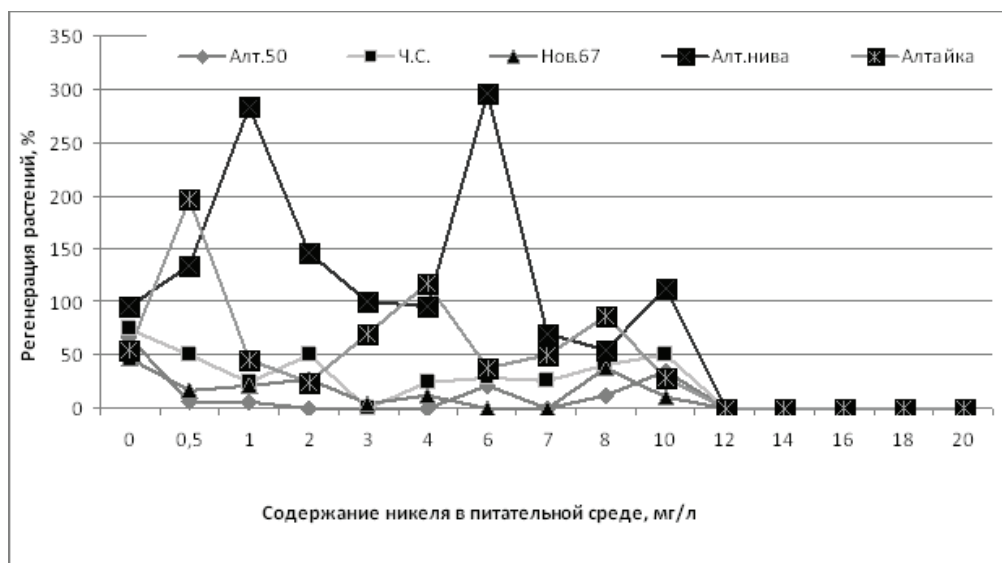


Рис. 2. Регенерация растений *T. aestivum* и *T. durum* в зависимости от концентрации никеля в питательной среде

Библиографический список

1. Гамзикова О. И., Барсукова В. С. Изменение устойчивости пшеницы к тяжелым металлам // Доклады РАСХН. — 1996. — № 2.
2. Жученко А. А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агросферы (теория и практика). — М., 2004.
3. Жученко А. А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы). — М., 2001.
4. Хлебова Л. П., Шлецер И. А. Создание клеточных линий пшеницы, устойчивых к воздействию ионов никеля // Известия Алтайского государственного университета. — 2007. — № 3(55).
5. Linsmaier E., Skoog F. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.* — 1965. — V. 18, № 1.
6. Бутенко Р. Г. Клеточные технологии в селекционном процессе // Состояние и развитие сельскохозяйственной биотехнологии : материалы Всесоюзной конференции (Москва, июнь 1986 г.). — Л., 1986.
7. Григорьева (Хлебова) Л. П., Шлецер И. А. Скрининг сортов пшеницы по способности к морфогенезу в культуре незрелых зародышей *in vitro* // Известия Алтайского государственного университета. — 2006. — № 3(41).