

Российской Федерации" (с изменениями на 18 февраля 2020 года) [Электронный ресурс]. – СПС «Консультант плюс». – URL: <http://www.consultant.ru/> (дата обращения 7.12.2020).

2. Портрет российского браконьерства [Электронный ресурс]. URL: <http://www.ohotniki.ru/hunting/societys/societys/article/2019/12/25/655633-portret-rossiyskogo-brakonerstva.html> (дата обращения: 7.12.2020).



УДК 581.19:631.52:633.112.1

06.01.05 Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

DOI 10.24411/2409-3203-2020-12410

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДА ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ПРОЛАМИНОВ В ПЕРВИЧНОМ СЕМЕНОВОДСТВЕ СОРТОВ СИБИРСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Любимова Анна Валерьевна

к.б.н., научный сотрудник лаборатории селекции зернофуражных культур

Фомина Мария Николаевна

к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории селекции зернофуражных культур

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северного Зауралья – филиал

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального

исследовательского центра Тюменского научного центра Сибирского отделения

Российской академии наук

Россия, Тюменская область

Аннотация: Целью исследований была оценка эффективности применения метода электрофореза запасных спирторастворимых белков зерна для первичного семеноводства сортов овса и ячменя селекции Научно-исследовательского института сельского хозяйства Северного Зауралья. Материалом для исследования послужили семьи сортов овса посевного Отрада, Фома и Тоболяк, а также сорта ячменя Абалак. Анализы проводили с 2014 по 2019 года в лаборатории селекции зернофуражных культур НИИСХ Северного Зауралья и лаборатории сортовой идентификации семян ГАУ Северного Зауралья. Установлено, что основу сортов Абалак составляет один биотип с частотой встречаемости 96,58%, генетическая формула гордеина сорта *HRD A2 B8 F2*. Среди проанализированных семей сорта Тоболяк преобладают (96,45%) семьи с генетической формулой авенина *Avn A4 B8 C2*, а сорта Фома – семьи с формулой *Avn A4 B7 C1*. Применение метода электрофореза в первичном семеноводстве сорта Отрада с 2014 по 2018 гг. позволило выявить и удалить из дальнейшего размножения семьи, относящиеся к сортовой примеси – сортовая чистота за годы исследований увеличилась с 75,16 до 95,27%, частота встречаемости гетерозигот снизилась с 15,96 до 4,52%. Общее число выявленных биотипов, отличающихся от основных биотипов сорта, снизилось в 10 раз. Генетическая формула сорта Отрада *Avn A10+4 B4 C1*. Установлено, что при первом применении метода электрофореза проламинов в системе первичного семеноводства нового сорта необходимо проанализировать не менее 700 семей. Это позволит определить биотипы, составляющие основу сорта, удалить из размножения сортовую примесь и гетерозиготы, а также получить эталонный спектр проламина сорта.

Ключевые слова: первичное семеноводство, зерновые культуры, овес, ячмень, электрофорез, проламины, эталонный спектр, биотипный состав, сортовая чистота.

ESTIMATION OF THE EFFICIENCY OF THE PROLAMIN ELECTROPHORESIS METHOD IN PRIMARY SEED PRODUCTION OF SIBERIAN BREEDING VARIETIES

Lyubimova Anna V.

Ph.D., Researcher laboratory of selection of forage crops

Fomina Maria N.

Ph.D., Leading Researcher laboratory of selection of forage crops

SRIA for NTUR – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS

Russia, Tyumen region

Abstract: The purpose of the research was to assess the effectiveness of the application of the method of electrophoresis of alcohol-soluble seed storage proteins for primary seed production of oat and barley varieties bred by the Scientific Research Institute of Agriculture of the Northern Trans-Urals Region. The material for the study was the families of oat varieties Otrada, Foma and Tobolyak, as well as the barley variety Abalak. The analyzes were carried out from 2014 to 2019 in the laboratory of selection of forage crops of the Scientific Research Institute of Agriculture of the Northern Trans-Urals Region and the laboratory of varietal identification of seeds of the State Agrarian University of the Northern Trans-Urals. It was found that the basis of the Abalak varieties is one biotype with a frequency of occurrence of 96.58%, the genetic formula of hordein *HRD A2 B8 F2*. Among the analyzed families, varieties Tobolyak are dominated (96.45%) by families with the genetic formula of avenin *Avn A4 B8 C2*, and varieties Foma – families with the formula *Avn A4 B7 C1*. The use of the electrophoresis method in the primary seed production of the Otrada variety from 2014 to 2018 made it possible to identify and remove from further reproduction families related to varietal impurities - varietal purity increased from 75.16 to 95.27% over the years of research, the frequency of occurrence of heterozygotes decreased from 15, 96 to 4.52%, and the total number of identified biotypes that differ from the main biotypes of the variety decreased by 10 times. Genetic formula of the Otrada variety *Avn A10 + 4 B4 C1*. It was found that at the first application of the prolamins electrophoresis method in the primary seed production system of a new variety, it is necessary to analyze at least 700 families. This will make it possible to determine the biotypes that make up the basis of the variety, to remove the varietal admixture and heterozygotes from reproduction, and also to obtain the reference spectrum of the variety prolamins.

Keywords: primary seed production, cereals, oats, barley, electrophoresis, prolamins, reference spectrum, biotype composition, varietal purity.

При производстве элитных семян, для поддержания их сортовой чистоты используют метод отбора типичных растений на основе морфологических признаков, с последующей их оценкой в следующем году [1, 2]. Однако такая схема первичного семеноводства имеет свои недостатки. Значительная часть современных сортов зерновых культур создается с использованием метода гибридизации. В результате искусственного отбора из полученной гибридной популяции удается получить выравненный сорт. При этом однотипные по морфологическим признакам сорта могут быть неоднородны по своей генетической структуре. Такие гетерогенные сорта достаточно распространены в настоящее время [3]. По данным некоторых авторов, наличие нескольких биотипов повышает адаптивный потенциал сорта, что особенно важно в экстремальных природно-климатических условиях Западной Сибири [4, 5]. Поддержание постоянства биотипного состава сортов с использованием существующей системы первичного семеноводства достаточно затруднительно, так как разные биотипы одного сорта могут быть практически неотличимы внешне.

Необходимо отметить, что даже для поддержания чистосортности гомогенных сортов стандартных методов первичного семеноводства может быть недостаточно. Так,

например, в случае биологического засорения – расщеплений остаточных гетерозигот, переопылений, мутационных процессов и т.п. – выявить особи, отличающиеся генетически, может быть крайне затруднительно на основе одних лишь морфологических признаков [6, 7]. Поэтому, для поддержания сортовой чистоты и генетической структуры сортов рационально использовать лабораторные методы. Один из наиболее доступных и широко применяемых – это электрофорез запасных спирторастворимых белков зерна – проламинов. Благодаря высокому уровню полиморфизма, эти белки обладают сортоспецифичностью, что позволяет эффективно различать сорта, гибриды и даже селекционные линии [8-10].

Целью наших исследований было оценить эффективность применения метода электрофореза проламинов для первичного семеноводства сортов овса и ячменя селекции НИИСХ Северного Зауралья.

Материалы и методы. Анализы проводили с 2014 по 2020 год. Материалом для исследования послужили сорта овса и ячменя селекции НИИСХ Северного Зауралья (табл.1).

Таблица 1 – Характеристика растительного материала

№п/п	Культура	Сорт	Год исследований	Количество семей, шт.
1	Ячмень	Абалак	2018	1285
2	Овес	Отрада	2014	1115
			2015	575
			2018	465
			2015	74
3	Овес	Фома	2017	774
4	Овес	Тоболяк	2019	1519

В лаборатории селекции зернофуражных культур НИИСХ Северного Зауралья осуществлялся морфологический анализ метелок и колосьев изучаемых сортов. Отобранные по результатам анализа семьи передавались для дальнейших исследований в лабораторию сортовой идентификации семян ГАУ Северного Зауралья. От каждой семьи отбирали по три зерна, которые исследовали методом электрофореза запасных спирторастворимых белков – проламинов. Анализ авенинов овса и гордеинов ячменя проводили по ранее описанной методике [11].

Результаты и обсуждение. Всего за годы исследований был проанализирован один сорт ячменя и 3 сорта овса. При этом семьи сортов Отрада и Фома регулярно исследуются уже на протяжении ряда лет, что позволяет говорить об успешном внедрении метода электрофореза проламинов в систему первичного семеноводства зерновых культур.

В результате исследования запасных белков сорта ячменя Абалак нами было выявлено 7 различных типов спектров гордеинов. Основу сорта (96,58%) составили семьи с первым типом спектра. Семьи с компонентным составом проламинов, отличающимся от основного, были исключены из дальнейшего размножения. Генетическая формула гордеина сорта Абалак имеет вид *HRD A2 B8 F2* (табл. 2).

Таблица 2 – Результаты исследования проламинов семей сортов ячменя и овса

№ п/п	Сорт	Год	Кол-во и частота встречаемости основных биотипов, шт. (%)	Кол-во иных типов спектра, шт.	Частота встречаемости гетерозигот, %	Формула проламина сорта
1	Абалак	2018	1 (96,58)	6	0,16	<i>HRD A2 B8 F2</i>
2	Отрада	2014	2 (75,16)	35	15,96	<i>Avn A10+4 B4 C1</i>
		2015	2 (88,87)	6	5,74	

Продолжение таблицы 2

		2018	2 (95,27)	3	4,52	
3	Фома	2015	1 (90,54)	7	0,00	<i>Avn A4 B7 C1</i>
		2017	1 (85,66)	8	0,26	
4	Тобояк	2019	1 (96,45)	12	0,20	<i>Avn A4 B8 C2</i>

Исследования семей сорта овса Отрада проводились в 2014, 2015 и 2018 годах. Установлено, что основу сорта составляют два биотипа соотношением 2:1. Количество сортовой примеси за годы исследований уменьшилось с 24,84% в 2014 году до 4,73% в 2018 году. В результате анализа семей данного сорта в 2014 году было выявлено наибольшее количество сортовой примеси среди всех проанализированных сортов – 24,84%, из которых 64,26% приходилось на гетерозиготы. Гетерозиготные растения представляют собой источник сортовой примеси в будущем, так как при дальнейших пересевах неизбежно будут происходить расщепления, приводящие к появлению новых, нетипичных для сорта генотипов. Своевременное удаление гетерозиготных растений из популяции сорта необходимо для поддержания его генетической стабильности [12, 13].

Достаточное большое количество гетерозигот и разнообразных биотипов, выявленных при анализе сорта Отрада в 2014 году, свидетельствует о его недостаточной, на тот момент, стабильности. Вероятнее всего это связано с методом создания сорта – гибридизация сортов (WW 170079 x Pc 39) x (Mutica 600 x Risto) с последующим индивидуальным отбором в четвертом поколении F4. По нашему мнению, в результате отбора для последующего размножения были оставлены растения, гетерозиготные по одному или нескольким проламин-кодирующим локусам, что привело к появлению большого количества биотипов. Как видно из таблицы 2, использование метода электрофореза запасных белков позволило эффективно выявить и удалить из дальнейшего размножения семьи, относящиеся к сортовой примеси – сортовая чистота к 2018 году увеличилась более чем на 20%, частота встречаемости гетерозигот снизилась в 3 раза, а число выявленных биотипов, отличающихся от основных биотипов сорта, снизилось в 10 раз.

Сорт овса посевного Фома был проанализирован в 2015 и 2017 годах. По результатам исследования проламинов семей сорта, в 2017 году показатель сортовой чистоты снизился относительно 2015 года с 90,54 до 85,66%. На наш взгляд это связано с недостаточным объемом материала, проанализированного в 2015 году – 74 семьи. Такая небольшая выборка не позволила в полной мере охватить все разнообразие биотипов сорта. В ходе анализа 2017 года подтверждено, что сорт Фома состоит из одного биотипа с генетической формулой *Avn A4 B7 C1*. Как показали наши исследования, количество семей, которые необходимо проанализировать методом электрофореза в том случае, если к сорту такой метод применяется впервые, должно быть не менее 700. Такой объем позволит исключить особей с отличающимся генотипом, гетерозиготные растения и при этом получить достаточно семенного материала для размножения. Анализ запасных белков сорта овса Тобояк позволил установить, что основу сорта (96,45%) составляет один биотип с формулой *Avn A4 B8 C2*.

На основании данных о компонентном составе проламинов исследованных сортов были получены их эталонные спектры запасных белков (Рис.1).

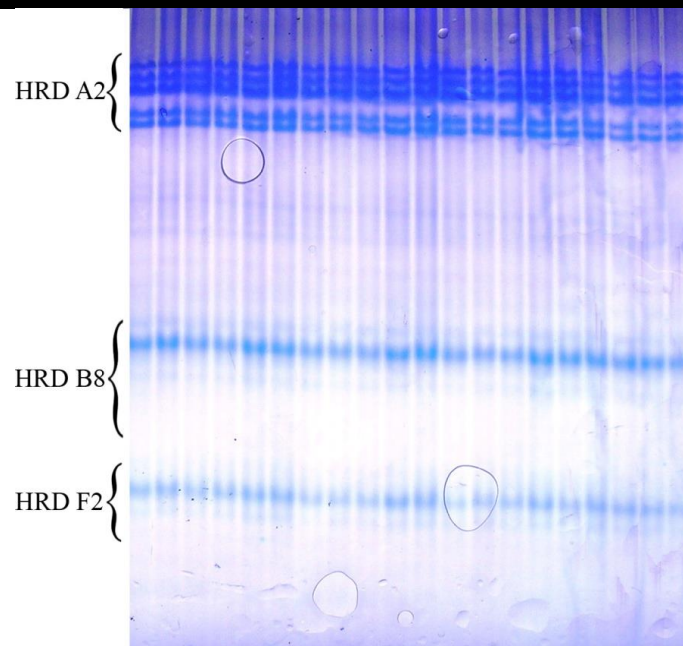


Рисунок 1. Эталонный спектр гордеинов сорта ячменя Абалак.

Эталонный спектр – это своеобразный белковый «паспорт» сорта. В совокупности с генетической формулой проламина, такой спектр позволяет в дальнейшем осуществлять контроль биотипного состава сорта и его сортовой чистоты в процессе возделывания, а также обеспечит защиту авторских прав селекционеров [14, 15].

Заключение. Установлено, что электрофорез проламинов успешно применяется в системе первичного семеноводства сортов для выявления гетерозигот и особей с отличающимся компонентным составом запасных белков.

Регулярное применение данного метода позволяет существенно сократить количество сортовой примеси (биологической и механической) в популяции сорта и эффективно поддерживать его генетическую стабильность.

При первом применении метода электрофореза запасных белков в системе первичного семеноводства нового сорта необходимо проанализировать не менее 700 семей. Это позволит определить биотипы, составляющие основу сорта, удалить из размножения сортовую примесь и гетерозиготы, а также получить эталонный спектр проламина сорта.

Список литературы:

1. Тоболова Г.В. Сортовые качества семян // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №8. С.70-73.
2. Биотипные спектры ярового сорта пшеницы Тюменская 80 / Ю.П. Логинов, Г.В. Тоболова, А.А. Казак, В.В. Труфанов // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2012. №2 (225). С. 29-34.
3. Тоболова Г.В. Определение компонентного состава глиаина у сортов сильной пшеницы Тюменской области // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2008. №4 (184). С. 34-37.
4. Fomina M.N., Tobolova G.V., Lyubimova A.V. New generation varieties of spring oats selected for areas with the climate as in Ural, Siberia and the Far East of Russia // International scientific and practical conference «AgroSMART - Smart solutions for agriculture» (AgroSMART 2018), Tyumen: Atlantis Press, 2018. P. 201-205. DOI: [10.2991/agrosmart-18.2018.39](https://doi.org/10.2991/agrosmart-18.2018.39)
5. Логинов Ю.П., Казак А.А., Юдин А.А. Многобиотипные сорта – резерв устойчивого производства зерна яровой пшеницы в Сибири // Достижения науки и техники АПК. 2013. №10. С. 25-28.

6. Любимова А.В., Ярова Э.Т., Еремин Д.И. Изменение биотипного состава сортов яровой тритикале в процессе возделывания, // Вестник КрасГАУ. 2018. №5 (140). С. 3-8.
7. Тоболова Г.В. Изменение биотипного состава сорта мягкой пшеницы Тюменская 80 в процессе семеноводства // Аграрный вестник Урала. 2009. №10 (64). С.12-14.
8. Konarev A.V. Protein markers and metabolomic approach to variety identification, seed control, food and feed utilization of oats //The 10th International Oat Conference: Innovation for Food and Health Abstracts of oral and poster presentation. Сеп. «OATS 2016» Federal Research Center the N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR). 2016. P. 74-75.
9. Генетическое разнообразие современных российских сортов яровой и озимой твёрдой пшеницы по глиадинкодирующим локусам / А.М. Кудрявцев, Л.В. Дедова, В.А. Мельник, А.А. Шишкина и др. // Генетика. 2014. Т.50. № 5. С. 554-559.
10. Губарева Н.К., Гаврилюк И.П., Конарев А.В. Идентификация сортов сельскохозяйственных культур по электрофоретическим спектрам запасных белков //Аграрная Россия. 2015. №11. С. 21-26.
11. Фомина М.Н., Остапенко А.В., Тоболова Г.В. Использование метода электрофореза проламинов в первичном семеноводстве овса: рекомендации. Тюмень: ФГБНУ «НИИСХ Северного Зауралья», 2016. 32 с.
12. Зобова Н.В., Шевцова Л.Н., Сурин Н.А. Сортная идентификация и семенной контроль ячменя по запасным белкам семян – гордеинам // Вестник Красноярского государственного университета. 2004. №6. С. 77-80.
13. Прядун Ю.П., Любимова А.В., Еремин Д.И. Изучение аллельного состава глиадин-кодирующих локусов селекционных линий твердой пшеницы // Вестник КрасГАУ. 2010. №7(160). С. 3-10.
14. A set of new simple sequence repeat and avenin DNA markers suitable for mapping and fingerprinting studies in oat (*Avena* spp.) / Charlene P. Wight, Weikai Yan, Jennifer Mitchell Fetch, Jitka Deyl, Nikolas A. Tinker // Crop Science. 2010. V. 50. P. 1207-1218. DOI: 10.2135/cropsci2009.09.0474
15. Остапенко А.В., Тоболова Г.В. Создание базы данных сортов рода *Avena* L. На основе изменчивости компонентного состава проламинов // Агропродовольственная политика России. 2015. №4 (40). С. 44-46.