

2. Inzhenerno-tehnicheskoe obespechenie regional'nogo mashinoispol'zovaniya i sel'hozmashinostroenie: sb. nauch. tr. / GNU Dal' NIIMESKH Rossel'hozakademii. – Blagoveshchensk, 2011. – 269 s.
3. Sistema zemledeliya Amurskoy oblasti / otv. red. V.A. Til'ba. – Blagoveshchensk: Priamur'e, 2003. – 304 s.



УДК 633.34 : 633.35

А.А. Чураков, А.Н. Халипский

ОЦЕНКА СОМАКЛОНАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СОИ И НУТА ПО КАЧЕСТВУ И ПРОДУКТИВНОСТИ

Наряду с гибридизацией быстро получить растения с новыми комбинациями признаков можно, используя соматклональную изменчивость. Для выявления ценных генотипов соматклонов, установления их стабильности было проведено изучение популяций сои и нута, полученных в культуре in vitro. Регенеранты сои получены в культуре зрелых изолированных семядольных узлов из сорта СибНИИК 315, нута – в культуре тканей незрелых семян сорта Краснокутский 123. Полевые испытания соматклонов проведены в 2011–2013 гг. Продолжительность вегетации большинства соматклонов была на 3–5 сут больше исходных форм. При этом различия в продолжительности периода от цветения до восковой спелости у линий сои R-39, 40 более значительные. Это даёт возможность выделять генотипы, устойчивые к избыточному увлажнению и дефициту тепла, которые наблюдаются в августе и сентябре. У наиболее позднеспелой линии R-23 зафиксировано расщепление по продолжительности вегетации, выделены скороспелые формы. По урожайности и элементам структуры выявлены отклонения от исходной формы. Например, среднее число семян в бобе линий 4 R-09 и R-27 – 1,8 шт. (+0,3 к исходному сорту СибНИИК 315), у R-22 – 1,2 шт. (–0,3). Перспективным представляется отбор на содержание белка: отклонения у некоторых линий +2 ... +9 % от исходного сорта. По итогам полевой оценки 36 соматклональных линий нута были выделены продуктивные, с компактным кустом: Н-1-10, 2-10, 5-10, 9-10, 27-10. Интерес представляют белосемянные формы Н-2-10, 27-10, урожайность которых на 37 и 65 г/м² выше бурсемянного стандарта. Соматклональная изменчивость способствует получению новых форм с хозяйственно-ценными признаками по актуальным направлениям селекции сои и нута в регионе (создание продуктивных, скороспелых, устойчивых к гидротермическим стрессам и основным патогенам сортов).

Ключевые слова: соматклональная популяция, соя, нут, качество семян, урожайность.

А.А. Churakov, A.N. Khalipsky

THE ASSESSMENT OF SOMATIC CLONAL POPULATIONS OF SOYBEAN AND CHICKPEA ON QUALITY AND PRODUCTIVITY

Along with the hybridization, it is possible to obtain plants with new combinations of features using somaclonal variability. To reveal valuable genotypes of somaclones, to estimate their stability, the research of populations of soybean and garbanzo, which were obtained in vitro, was carried out. The regenerates of soybean were obtained in the planting of ephebic isolated cotyledonary nodes from SibNIIC 315 breed, of garbanzo in the planting of tissues of immature seeds from Krasnokutsky 123 breed. The tests on the fields of the somaclones were carried out in 2011–2013. The duration of vegetation of the most of the somaclones was 3 or 5 days more than the initial forms. Where in the differences in the duration of the period from blossoming to wax stage of ripeness of the soybean lines R-39, 40 were more significant. This

gives the opportunity to select the genotypes which are steady to redundant moistening and lack of warmth, which can be observed in August and September. The latest ripening variety R-23 shows decompose in the vegetation period; early ripening forms were selected. The derivations from the initial form were observed in crop-production power and structural elements. For example, the average quantity of seeds in a bean is 1,8 pcs. (lines R-09 and R-27), which is 0,3 more than SibNIIK 315 as a standard has, whereas R-22 has only 1,2 pcs., which is 0,3 less than SibNIIK 315 as a standard. The selection by the contents of protein seems to be perspective: certain varieties show the derivations from +2 to +9 % from the initial breed. Resuming the field evaluation of thirty-six somaclonal lines of garbanzo, some productive varieties with compact bushes were selected: N-1-10, 2-10, 5-10, 9-10, 27-10. White-seeded forms N-2-10, 27-10, the crop-producing power of which is 37 and 65 g/sq. m respectively more than the brown-seeded standard, is quite interesting. The somaclonal variability allows to select some new forms with valuable for agriculture qualities on the trends of soybean and garbanzo selection in the region (the creation of breeds that are productive, early-ripe, resistant to hydrothermal stresses and the main pathogenic bacterium).

Key words: somatic clonal population, soybean, chickpea, the quality of seeds, yield.

Введение. Зерновые бобовые культуры являются самоопылителями, их сорта высокоинбредны, поэтому для формирования генетической базы отбора целесообразно, наряду с традиционными методами гибридизации и мутагенеза, применять эффективные биотехнологические методы, направленные на увеличение генетического разнообразия.

Новые признаки и их комбинации можно получать, используя соматоклональную изменчивость и мутагенез *in vitro* [1]. Эти методы основаны на спонтанном или индуцированном возникновении в клетках разнообразных мутаций (так называемых соматоклональных вариаций) при культивировании изолированных растительных тканей на питательной среде. Полученные из мутировавших клеток растения-регенераты несут и передают своему потомству наследственные изменения самых разных признаков. Задачи исследователя состоят в получении и выявлении соматоклональных вариаций, изучении их стабильности в ряду поколений и отборе перспективных форм для дальнейшей селекционной работы.

Цель исследований: изучение исходного сои, нута, полученного методом соматоклональной изменчивости в культуре *in vitro*.

Для достижения запланированного результата в ходе исследования решались следующие задачи: изучение фенотипической изменчивости хозяйственно значимых признаков генеративных потомств растений-регенерантов; отбор селекционно ценных соматоклонов; выявление закономерностей изменчивости у изученных популяций.

Объекты и методы исследований. Объектами исследований служили растения, полученные в культуре зрелых изолированных семядольных узлов из семян сорта СибНИИК 315 (соя), в культуре тканей незрелых семян сорта Краснокутский 123 (нут).

Экспланты были получены в отделе селекции и биотехнологии ГНУ СибНИИ кормов под руководством д-ра биол. наук О.А. Рожанской. Для введения в культуру *in vitro* зрелые семена сои промывали в растворе ПАВ, затем дезинфицировали 5 мин в 70 % спирте и 20 мин – в смеси 95 % спирта и 3 % перекиси водорода с соотношением компонентов 1:1. Далее семена проращивали в стерильных пробирках на бобовом агаре. Экспланты из семядольных узлов и семядолей культивировали на агаризованной питательной среде Гамборга с уменьшенной вдвое концентрацией солей (1/2 В5) с включением БАП 1,0. Молодые растения-регенеранты размножали путём клонирования в культуре стеблевых узлов, спустя 3–4 недели растения с корнями и листьями высаживали в горшки с почвой.

Полевые испытания соматоклонов проведены в 2011–2013 гг. на опытном поле лаборатории зерновых бобовых культур Красноярского НИИСХ. Предшественник – картофель. Допосевная обработка почвы заключалась в ранневесеннем бороновании с целью сохранения влаги и культивации по диагонали к основной обработке на глубину 6 см. Удобрения не вносились. Посев культур

проводили в середине второй декады мая, когда температура почвы на глубине заделки семян достигала 8 °С.

Семена регенерантов были высеяны в специальном питомнике сеялкой ССФК-7 на глубину 5 см с нормой 40 зёрен на 1 м² (в первый год изучения). В дальнейшем соблюдали оптимальную норму высева — 80 зёрен на 1 м² [2, 3]. Контроль (исходный сорт) размещали через 10 номеров. В период вегетации проводили фенологические наблюдения, учёт повреждения вредителями и поражения болезнями в соответствии с методическими указаниями ВИР им. Н.И. Вавилова [4]. Продолжительность вегетационного периода определяли от даты полных всходов до начала восковой спелости семян в верхнем ярусе растений. До уборки отбирали сноп для структурного анализа на каждом варианте опыта. Общая площадь делянки – 1,3 м², учётная – 1 м². Уход за посевами заключался в прикатывании и довсходовом бороновании лёгкими боронами с целью уничтожения сорняков на ранних фазах их развития и ручных прополках. Во время вегетации проводились оценки по фазам развития растений, а также визуальные оценки образцов на продуктивность и скороспелость. Отмечали устойчивость к растрескиванию бобов и осыпанию семян, полеганию растений, поражению болезнями и повреждению неспециализированными вредителями. При анализе структуры урожайности подсчитывали число продуктивных узлов, бобов и семян с растения, измеряли высоту растений и высоту прикрепления первого плода, вес семян с растения.

Режим увлажнения и обеспеченность теплом в годы исследований отличались как между собой, так и от средних многолетних значений. Это позволило всесторонне изучить реакцию соматоклональных линий и выделить перспективные образцы.

По продолжительности вегетационного и межфазных периодов изученные соматоклональные мутанты можно разделить на 2 группы: имеющие длину вегетации на уровне исходного сорта (подавляющее число линий) и созревающие незначительно позднее. При этом различия в продолжительности второго периода вегетации были более значительные. Это даёт возможность выделять генотипы, устойчивые к избыточному увлажнению и дефициту тепла, которые наблюдаются в августе и сентябре.

По мнению О.А. Рожанской [5], отклонение вегетации у соматоклонов сои до 3 сут от исходного сорта в сторону увеличения или уменьшения не является достаточным основанием, чтобы говорить, что эти линии более или менее позднеспелые / скороспелые. Значительно отличались по этому признаку только два мутанта: R–39, R–40. В то же время для этих линий характерно сокращение второго межфазного периода, что может косвенно свидетельствовать о их меньшей потребности в тепле для созревания и большей холодостойкости. Одновременно сокращение периода от начала цветения до восковой спелости не компенсировало продолжительный первый период. Линии с разной продолжительностью межфазных периодов можно использовать в синтетической селекции, чтобы добиться оптимального соотношения продолжительности вегетации и межфазных периодов. У наиболее позднеспелой линии R–23 зафиксировано расщепление по продолжительности вегетации. В результате многократных отборов выделены скороспелые формы, которые изучаются в селекционных питомниках.

Существенно изменяется длина вегетационного периода в зависимости от погодных условий года. Вклад в вариацию вегетационного периода изученных факторов составляет 33 %.

По урожайности и элементам, её слагающим, также выявлена существенная разница как между соматоклональными линиями, так и с исходным сортом (табл. 1). Изменчивость признаков у соматоклонов идёт в направлении, противоположном действию искусственного отбора на исходный генотип. Что касается менее отселектированных признаков, то их варьирование у соматоклонов идёт как в большую, так и в меньшую сторону. Представляют интерес две линии (R–39, R–40), зацветающие соответственно на 5 и 13 сут позднее сорта СибНИИК 315 и созревающие на 2–8 сут позднее. Этот признак является ценным с точки зрения стратегии адаптивной селекции, поскольку позволяет растениям уходить от раннелетней засухи, часто случающейся в нашей зоне.

Урожайность и элементы структуры в питомнике соматклонов сои (Красноярская лесостепь)

Признак	2011 г.		2012 г.		2013 г.	
	СибНИИК 315	Соматклоны R ₂ *	СибНИИК 315	Соматклоны R ₃	СибНИИК 315	Соматклоны R ₄
Растений к уборке, шт/м ²	26±1,2	<u>26,4±1,3**</u> 21–32	63,3±1,9	<u>56,9±2,6</u> 44–68	51,4±2,8	<u>46,7±3,2</u> 32–64
Высота растений, см	36±1,3	<u>32,6±1,4</u> 27–42	48,6±2,1	<u>53,4±4,2</u> 40–75	47,9±4,5	<u>42,2±3,3</u> 28–60
Высота заложения 1-го боба, см	10,4±0,4	<u>11,8±0,4</u> 10–14	6,5±0,8	<u>7,6±0,9</u> 3–11	9,3±0,5	<u>8,1±0,5</u> 5–10
Продуктивных узлов, шт.	4,8±0,5	<u>3,7±0,3</u> 2–5	8,6±0,8	<u>8,5±0,8</u> 6,2–12,0	7,9±0,7	<u>6,9±0,7</u> 4–11
Бобов на растении, шт.	6,9±0,7	<u>5,5±0,5</u> 3–8	13,5±1,7	<u>13,6±1,3</u> 8,1–19,5	12,0±1,7	<u>9,8±1,1</u> 6–17
Семян с растения, шт.	10,8±1,0	<u>8,6±0,8</u> 5–12	21,1±2,3	<u>22,5±2,6</u> 12,4–34,6	18,2±3,0	<u>15,7±1,8</u> 8–26
Урожайность, г/м ²	30±4,7	<u>27,3±4,9</u> 18–34	89,1±5,2	<u>94,7±16,2</u> 26,0–199	99,1±26,1	<u>109,6±13,6</u> 54–184
Вегетационный период, сут.	104±0,9	<u>105±1,0</u> 103–113	104,4±1,2	<u>107,9±1,2</u> 101–115	105,4±0,6	<u>104,7±1,3</u> 102–112
Количество ветвей, шт.	–	–	–	–	1,4±0,2	<u>1,1±0,3</u> 0,2–2,8

* Полевое поколение соматклонов.

** В числителе – среднее значение, в знаменателе – размах варьирования.

Высота прикрепления первых бобов является признаком, которому все селекционеры уделяют особое внимание, поскольку от его выраженности будет зависеть величина потерь зерна во время уборки. Несмотря на генетическую обусловленность данного признака, его проявление в значительной степени изменяется в зависимости от элементов технологии и погодных условий. В засушливом 2012 г. этот показатель снизился, по сравнению с контролем, у $\frac{2}{3}$ соматклонов за счёт раннего начала цветения. В увлажнённые 2011, 2013 гг. высота заложения первых бобов несколько увеличилась, главным образом, за счёт повышения минимального значения признака. По этому основанию все линии можно классифицировать, как имеющие среднюю высоту прикрепления первых плодов. Путём целенаправленных отборов можно несколько улучшить данный показатель по сравнению с исходным сортом, но добиться значительного улучшения показателя не представляется возможным.

Семенная продуктивность сои также подвержена изменениям под действием погодных условий. Низкую продуктивность культуры в 2011 г. можно объяснить не только прохладной погодой июля, августа, но и малым количеством растений на единице площади. В 2012 г. наблюдалась повышенная среднесуточная температура в июне (+5,2 °С к средней многолетней), на фоне отсутствия дождей. 16-го числа выпало 17,7 мм осадков, что совпало с периодом формирования репродуктивных органов культуры и положительно сказалось на продуктивности. В 2013 г., несмотря на обильные осадки, растения сои испытывали недостаток тепла (–1,2 °С к средней за вегетацию), а также были сильно поражены корневыми инфекциями. Урожайность во влажный год была несколько выше (+1,5 ц у соматклонов и +1 ц у сорта СибНИИК 315), чем в засушливый. Это объясняется снижением уборочных потерь вследствие увеличения высоты закладки первых бобов. Основываясь на результатах проведённого исследования, а также на полученных ранее данных [6], можно утвер-

ждать, что на урожайность сои в Красноярской лесостепи большее влияние оказывает сумма температур, нежели количество осадков.

Значительное влияние на величину урожайности оказывает число семян в бобе. Исходный сорт, как и изученные линии, относятся к группе скороспелых, для них характерна низкая обсеменённость бобов. В среднем в каждом бобе у линий 4 R-09 и R-27 формируется по 1,8 шт. семян, т. е. на 0,3 больше, чем у СибНИИК 315. Остальные образцы превосходят исходный сорт на 0,1–0,2 шт., исключение составляет R-22 с содержанием 1,2 семени на боб.

Несущественно превысили исходный сорт R-34, R-42, 4 R-09. Для этих линий также характерно среднее отклонение от сорта СибНИИК 315 по элементам структуры. Этот факт подтверждает мнение Р.Х. Макашовой [7] о том, что наибольшая урожайность определяется не максимальным проявлением того или иного элемента урожайности, а формируется в комплексе, при среднем проявлении каждого признака.

Погодные условия в 2011–2013 гг. сказались на росте и развитии нута иначе, чем на сое. Благоприятный гидротермический режим сложился в 2012 г., когда наблюдалась сухая и жаркая погода. Вегетационный период составил 112–115 сут, а урожайность – 236–428 г/м². Избыточное увлажнение в 2011 и 2013 гг. привело к затягиванию цветения вплоть до заморозков, а низкие среднесуточные температуры привели к низкому проценту завязавшихся бобов. Урожайность лучших образцов в эти годы не превышала 90 г/м², при продолжительности вегетации до 127 сут. Сортообразцы нута имели более продолжительный вегетационный период, как за счёт более раннего появления всходов, так и благодаря устойчивости к осенним заморозкам.

Во втором поколении потомств регенерантов нута значительно варьировали морфологические и количественные признаки (табл. 2), несмотря на проведённый предварительный скрининг растений R₁ по продуктивности.

Таблица 2

Элементы структуры урожая и продуктивность второго поколения соматклонов нута (Красноярская лесостепь, 2011 г.)

Образец	Растений к уборке, шт/м ²	Высота растений, см	Количество, шт/растение		Урожайность, г/м ²	Поражённых семян, %
			бобов	семян		
1	2	3	4	5	6	7
Краснокутский 123, и. ф.	25	55	13	8	45	9
H-1-10	33	40	13,9	10,6	90	13
H-2-10	13	50	20,3	12,9	26	18
H-3-10	25	68	13,2	5,1	29	10
H-5-10	33	40	18,5	15,7	64	14
H-6-10	28	60	21,5	9,4	34	3
H-7-10	35	68	19,2	8,4	38	2
H-8-10	33	77	18,2	5,9	33	9
H-9-10	33	43	24,4	18,2	91	11
H-11-10	32	65	18,7	7,2	31	8
H-12-10	18	66	20,8	13,2	34	9
H-13-10	24	71	16,5	6,5	21	7
H-14-10	24	64	13,6	6,4	20	10
H-17-10	30	70	16,1	5,8	11	4
H-18-10	30	40	11,6	7,2	39	15
H-19-10	30	67	10,5	4,3	19	5
H-20-10	27	67	8,5	4,1	16	4

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6	7
H-23-10	30	60	8,9	4,8	23	8
H-26-10	28	51	10,3	6,0	37	6
H-27-10	21	55	14,8	11,1	29	11
H-29-10	12	44	9,9	8,5	18	10
H-37-10	29	60	10,5	3,4	11	4

Генетические различия соматклонов проявились в высоте растений и строении куста. Пять линий имели высоту от 40 до 50 см, а ветви отходили от главного стебля под острым углом, что предохраняло их от обламывания. Для семи линий был характерен высокий куст (68–77 см), при этом на растениях формировалось незначительное число бобов и семян, в результате эти формы были самыми низкопродуктивными. Дальнейшего интереса для изучения они не представляли, поэтому по итогам лабораторной оценки были выбракованы.

Качество соевого зерна формируется под влиянием многих факторов, которые обуславливаются как агротехникой, так и сортовыми особенностями. Ведущая роль в формировании качества зерна принадлежит погодным условиям – температуре и осадкам. Образование в соевых семенах большого количества белка связано с высокими температурами и большим количеством осадков. Большее количество жира, напротив, аккумулируется в годы с высокой температурой и дефицитом осадков [8, 9]. Содержание белка определено в лаборатории агрохимии Красноярского НИИСХ методом сжигания с образованием реакции индофенольной зелени. Данные представлены в таблице 3. В условиях короткого вегетационного периода и невысоких среднесуточных температур представляет большую перспективу селекция в направлении повышения белка, что актуально и в кормовом использовании сои. Отбор среди соматклональных линий в данном направлении может быть весьма успешным, поскольку среди изученных линий выявлено значительное варьирование содержания белка и отклонения в большую и меньшую стороны от исходного сорта СибНИИК 315.

Таблица 3

Содержание протеина в зерне сои (Красноярская лесостепь, 2012 г.)

Образец	Сырой протеин, % АСВ
СибНИИК 315	32,2
4R-09	29,3
R-21	32,8
R-22	41,4
R-26	31,8
R-27	27,3
R-34	31,8
R-39	24,5
R-40	31,1
R-42	34,5

Заключение. Проведённая сравнительная оценка соматклональных вариантов с исходными формами позволяет установить, что соматклональная изменчивость способствует получению новых форм с хозяйственно-ценными признаками по актуальным направлениям селекции сои и нута в регионе (создание продуктивных, скороспелых, устойчивых к гидротермическим стрессам и основным патогенам сортов).

Литература

1. *Сидоров В.А.* Биотехнология растений. Клеточная селекция. – Киев: Наукова думка, 1990. – 280 с.
2. *Ступницкий Д.Н.* Формирование урожайности зернобобовых культур в Красноярской лесостепи в зависимости от сортовых особенностей и приёмов возделывания: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Новосибирск, 2009. – 17 с.
3. *Чураков А.А.* Продуктивность сои в зависимости от агротехнологических приёмов возделывания в Красноярской лесостепи // Вестн. КрасГАУ. – Красноярск, 2008. – № 4. – С. 70–73.
4. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: пополнение, сохранение и изучение: метод. указания / *М.А. Вишнякова* [и др.]; ГНУ ВИР Россельхозакадемии. – СПб.: Копи-Р Групп, 2010. – 142 с.
5. *Рожанская О.А.* Соя и нут в Сибири: культура тканей, соматклоны, мутанты. – Новосибирск: Юпитер, 2005. – 155 с.
6. *Халипский А.Н., Чураков А.А.* Влияние сроков посева, нормы высева на формирование урожайности скороспелых сортов сои в Красноярском крае // Вестн. БГСХА. – Улан-Удэ, 2009. – Вып. 3. – С. 123–126.
7. *Макашёва Р.Х.* Горох. – Л., 1973. – 244 с.
8. *Манакова Т.А.* Селекционная ценность исходного материала сои для условий центральной лесостепи Кемеровской области: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Кемерово, 2001. – 18 с.
9. Соя на Дальнем Востоке / *А.П. Ващенко, Н.В. Мудрик, П.П. Фисенко* [и др.]. – Владивосток: Дальнаука, 2010. – 435 с.

Literatura

1. *Sidorov V.A.* Biotekhnologiya rasteniy. Kletochnaya selektsiya. – Kiev: Naukova dumka, 1990. – 280 s.
2. *Stupnickiy D.N.* Formirovanie urozhainosti zernobobovykh kul'tur v Krasnoyarskoy leso-stepi v zavisimosti ot sortovykh osobennostey i priyomov vozdel'yvaniya: avtoref. dis. ... kand. s.-h. nauk. – Novosibirsk, 2009. – 17 s.
3. *Churakov A.A.* Produktivnost' soi v zavisimosti ot agrotekhnologicheskikh priyomov vozdel'yvaniya v Krasnoyarskoy lesostepi // Vestn. KrasGAU. – Krasnoyarsk, 2008. – № 4. – S. 70–73.
4. Kolleksiya mirovykh geneticheskikh resursov zernovykh bobovykh VIR: popolnenie, sohranenie i izucheniye: metod. ukazaniya / *M.A. Vishnyakova* [i dr.]; GNU VIR Rossel'hozakedemii. – SPb.: Kopi-R Grupp, 2010. – 142 s.
5. *Rozhanskaya O.A.* Soya i nut v Sibiri: kul'tura tkanej, somaklony, mutanty. – Novosibirsk: Yupiter, 2005. – 155 s.
6. *Halipskij A.N., Churakov A.A.* Vliyanie srokov poseva, normy vyseva na formirovanie urozhainosti skorospelykh sortov soi v Krasnoyarskom krae // Vestn. BGSKHA. – Ulan-Ude, 2009. – Vyp. 3. – S. 123–126.
7. *Makashyova R.H.* Goroh. – L., 1973. – 244 s.
8. *Manakova T.A.* Selekcionnaya tsennost' iskhodnogo materiala soi dlya usloviy central'noy lesostepi Kemerovskoy oblasti: avtoref. dis. ... kand. s.-h. nauk. – Kemerovo, 2001. – 18 s.
9. Soya na Dal'nem Vostoke / *A.P. Vashchenko, N.V. Mudrik, P.P. Fisenko* [i dr.]. – Vladivostok: Dal'nauka, 2010. – 435 s.

