

МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЙ ПОДХОД К ПРОЦЕССУ ДИАГНОСТИРОВАНИЯ И ОТБОРА ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ

¹Rotari E.A., ¹Ротарь А.И., ²Комарова Г.Е.,
¹Гузун Л.З., ¹Боунегру С.Н., ¹Фратя С.П.
¹Институт растениеводства «Порумбень»,
²Государственный Аграрный Университет Молдовы

Key words: algorithm, drought resistance, physiological dryness of seeds, water regime, lines, hybrids, corn.

Глобальные изменения климата значительно ощутимы на протяжении последних десятилетий в Республике Молдова, что выражается в нарастающей частоте засушливых периодов вегетации возделываемых сельскохозяйственных культур и, прежде всего, ведущей для Республики культуры – *Zea mays L.* [1]. Поэтому достаточно актуальной на текущий момент явилась предложенная в Институциональном Проекте Института Растениеводства «Порумбень» концепция разработки оптимальной схемы последовательных действий (алгоритма) на основе междисциплинарной системы оценки, сочетающей специфику физиолого-биохимических и селекционно-генетических методов для целенаправленного отбора засухоустойчивых форм кукурузы [3].

В течение первого года разработки проекта (2015 г.) были экспериментально обоснованы и предложены для дальнейшего использования ключевые методологические принципы физиолого-биохимической диагностики засухоустойчивых форм кукурузы [4].

Одним из общих постулатов гетерозисной селекции является положение о том, что успех выведения засухоустойчивых гибридов кукурузы определяется созданием, оценкой и выделением исходного материала, адаптированного к атмосферной и почвенной засухе, а именно: самоопыленных линий кукурузы. Поэтому экспериментальная задача представленной работы была

сконцентрирована на разработке промежуточного алгоритма отбора засухоустойчивых самоопыленных линий кукурузы с использованием предложенных 4-х методологических принципов физиолого-биохимической диагностики засухоустойчивых форм кукурузы.

Материалы и методы

Апробация промежуточного алгоритма была проведена на 51-ой самоопыленных линиях кукурузы, полученных в лаборатории селекции кукурузы для южных зон, отобранных из продиагностированных в 2015 году 82-ух линий, контрастных по степени устойчивости к засухе. В работе использованы данные метеорологической станции Бэлцата района Криулень за 2015 и 2016 гг. По метеоусловиям 2015 год выдался засушливым, а 2016 год – умеренно засушливым, что послужило хорошим нейтральным фоном для оценки параметров водного режима листа изученных генотипов.

В работе были использованы следующие методы: метод электрофореза зеина [2]; лабораторный метод оценки устойчивости к физиологической сухости семян кукурузы на этапе прорастания [6]; лабораторные методы оценки параметров водного режима листа по водоудерживающей способности и коэффициенту стабильности толщины листа на приборе Тургоромер [5]; способ финальной оценки по шкале баллов, являющихся усредненным итоговым показателем физиологической диагностики устойчивости к засухе по всем трем критическим для кукурузы фазам онтогенеза [4].

Для удобства проводимых обсуждений использованы следующие шкалы баллов (Ш.Б.) по физиологической оценке устойчивости к засухе, детально охарактеризованные в работе [4]:

Ш.Б. № 1 – для распределения генотипов по диапазону изменчивости коэффициента устойчивости к физиологической сухости семян кукурузы;

Ш.Б. № 2 – для распределения генотипов по диапазону варьирования показателей водного режима листа в фазу цветения и молочно-восковой спелости кукурузы;

Ш.Б. №3 – для распределения генотипов в пределах колебаний итоговой физиологической оценки устойчивости к засухе – по трем фазам проведенной диагностики.

Результаты и обсуждения

На первом этапе проведенного эксперимента все отобранные 51 линия кукурузы были проверены на генетическую однородность по белковым зеиновым профилям. Проведенный электрофорез проламиновой фракции белка индивидуальных зерновок, общей выборкой 80 зерен для каждого из изученных генотипов, продемонстрировал качественную работу селекционеров с представленным для физиологической диагностики линейным материалом. Для всех проанализированных линий была установлена 100% типичность, за исключением линии LH 82, для которой биологическая типичность составила 98%. На рис.1, в качестве примера проведенной ЭФ-ской оценки, представлены белковые профили зеина индивидуальных зерновок линии AS 971-5, свидетельствующие о их генетической однородности.

Часть семян электрофоретически протестированных линий кукурузы была использована для проведения второго этапа разрабатываемого алгоритма – оценки коэффициента устойчивости к физиологической сухости семян на стадии набухания и прорастания в лабораторных условиях. Выбор гипертонического раствора сахарозы (10 атм.) в качестве фактора, моделирующего ситуацию весенней почвенной засухи для прорастающих семян, позволил расклассифицировать изучаемые линии на пять групп по диапазону величин коэффициента устойчивости к указанному стрессовому

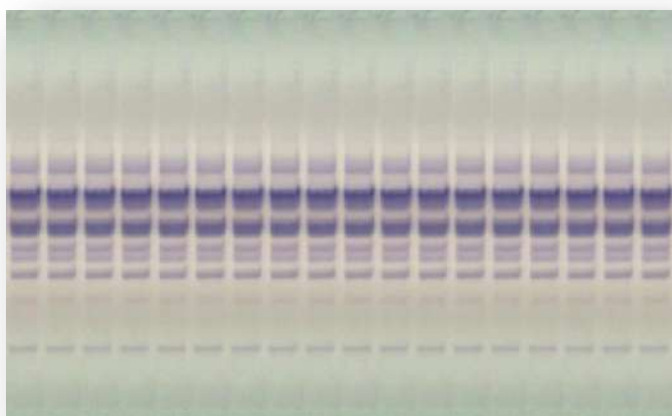


Рис. 1
Электрофореграмма линии кукурузы AS 971-5. Пример оценки 100%-ой типичности линии.

фактору. Как свидетельствуют данные таблицы 1, на стадии прорастания (всхожесть на 7-ой день прорастания в соответствии с общепринятым стандартом) 65% из всего набора изученных линий проявили высокий и нормальный уровень устойчивости к физиологической сухости семян.

Таблица 1. Распределение генотипов по шкале баллов №1, оценивающих коэффициент устойчивости к физиологической сухости семян кукурузы (C_{rus}) на стадии прорастания.

| Степень устойчивости | Высокая | Нормальная | Средняя | Слабая | Неустойчивый |
|----------------------|---------|------------|---------|--------|--------------|
| Балл | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| Количество генотипов | *17+10 | *1+5 | *1+2 | *3/- | *12/ - |

**Соответствующая степень устойчивости по C_{rus} проявляется как на 3-ий (показатель энергии прорастания), так и на 7-ой дни прорастания.*

Причем семена 18 линий из выделенных 33-х генотипов начинали проявлять устойчивость к указанному фактору стресса и по энергии прорастания (т.е. с 3-го дня проращивания).

Следует отметить, что апробация второго этапа разрабатываемого алгоритма позволяет не только проводить оценку испытываемых линий по шкале баллов, определяющих их распределение в соответствии с коэффициентом устойчивости к физиологической сухости семян в период их прорастания, но, одновременно, использовать экспериментальные данные по контрольному варианту прорастания для паспортизации качества высеваемого материала - по % их всхожести.

Следующий этап разрабатываемого промежуточного алгоритма проходил экспериментальную апробацию в комплексе полевых и лабораторных условий. Был прослежен характер распределения изученных экспериментальных линий по периоду вегетации, т.е. по количеству дней онтогенетического развития изученных линий кукурузы – от всходов до восковой спелости зерна. Лишь для одной линии – AS 560 - указанный период составил 71 день, для пяти линий – 80 дней, период в диапазоне – 84-87 дней характеризовал наибольшее количество линий изученной выборки – 35 генотипов, и

только 10 линий выделились по наиболее длительному периоду между всходами и восковой спелости – 92 дня.

Таким образом, интерпретация экспериментальных данных, полученных в результате оценки показателей водоудерживающей способности листа и коэффициента стабильности толщины листа у всей выборки изученных линий в моделируемых условиях завядания, во многом зависела от исходного физиологического состояния изучаемого генотипа, характеризующимся своим индивидуальным онтогенетическим состоянием по срокам наступления критических фаз развития (цветения и молочно-восковой спелости) в средnezасушливых условиях 2016 года.

Распределение по группам устойчивости к засухе линий кукурузы, диагностированных по комплексу показателей водного режима листа (табл.2), позволило констатировать, что только два генотипа соответствовали оценочной шкале устойчивости к засухе (Ш.Б.№2) – линии AS 592 и AS 586. В группу среднеустойчивых – было отобрано 7 генотипов (ДК 427, AS 585, AS 587, AS 591, AS 593, AS 560 и AS 246) с градацией 4,5 – 4,25 баллов и 6 генотипов (AS 159, AS 906-3, МК 396-18, LG 293, МК 288, PR 39Д81) – с градацией 4 балла. Все остальные 36 линий были включены в группу слабоустойчивых линий кукурузы с диапазоном оценочных баллов 3,75–3,50 – 3,25–3,00.

Таблица 2. Распределение линий кукурузы по шкале баллов №2, оценивающих устойчивость к засухе по комплексу показателей водного режима листа (2016 г.).

| Степень устойчивости | Устойчивый | Среднеустойчивый | | | Слабоустойчивый | | | |
|----------------------|------------|------------------|------|------|-----------------|------|------|------|
| | | 4,50 | 4,25 | 4,00 | 3,75 | 3,50 | 3,25 | 3,00 |
| Балл | 4,75 | 4,50 | 4,25 | 4,00 | 3,75 | 3,50 | 3,25 | 3,00 |
| Количество генотипов | 2 | 5 | 2 | 6 | 10 | 15 | 8 | 3 |

Переход к апробации 4-го, заключительного этапа разрабатываемого промежуточного алгоритма отбора засухоустойчивых линий кукурузы, предусматривал проведение финальной оценки изученных генотипов путем определения среднего балла по всем трем критическим фазам физиологического диагностирования: прорастания, цветения и молочно-восковой спелости (табл.3).

Таблица 3. Распределение генотипов по шкале баллов №3, характеризующих итоговую физиологическую оценку устойчивости к засухе.

| Степень устойчивости | Высоко устойчивый | Устойчивый | | Средне устойчивый | | Слабоустойчивый | | | | | | | Не устойчивый |
|----------------------|-------------------|------------|-----|-------------------|-----|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------------|
| | | 4,7 | 4,5 | 4,3 | 4,2 | 4,0 | 3,8 | 3,7 | 3,5 | 3,3 | 3,2 | 3,0 | |
| Балл | 5 | 4,7 | 4,5 | 4,3 | 4,2 | 4,0 | 3,8 | 3,7 | 3,5 | 3,3 | 3,2 | 3,0 | 2,8 |
| Кол-во генотипов | - | 6 | 2 | 2 | 4 | 9 | 5 | 3 | 3 | 6 | 6 | 4 | 2 |

Как свидетельствуют данные таблицы 3, по итоговой оценке в группу устойчивых к засухе генотипов вошло 8 линий (по шкале баллов 4,7 – 4,5). Причем, из них 7 линий: AS 586, AS 592, ДК 427, AS 585, AS 587, AS 591 и AS 593, - по показателям водного режима были распределены по двум группам оценочной шкалы №2 в диапазоне баллов 4,75 (устойчивые) - 4,5 (среднеустойчивые). Восьмая линия - AS 560, также оцененная как средnezасухоустойчивая по показателям водного режима, характеризовалась оценочным баллом 4,25 (по шкале №2).

Следует отметить, что обобщенный анализ полученных результатов по финальной оценке указанных форм по всем трем фазам диагностики позволяет провести более детальную классификацию линий внутри каждой из проанализированных групп устойчивости: среднеустойчивые – 6 генотипов (4,3 – 4,2 балла); слабоустойчивые – 36 генотипов, распределенных на 7 субгрупп (4,0; 3,8; 3,7; 3,5; 3,3; 3,2 и 3,0). Кроме того, использование предложенной итоговой шкалы оценки (№3) сделало возможным выявить две линии с наиболее низким потенциалом устойчивости к засухе. В группу неустойчивых к обсуждаемому стрессовому фактору генотипов вошли линии: AS 407 и PR 37 V 12.

Используя имеющиеся электрофоретические паспорта изученных линий, полученных на первом этапе разрабатываемого алгоритма, рандомизированным способом были сопоставлены выборочные белковые профили линий, контрастных по величине баллов, характеризующие их на устойчивость к засухе по шкале №3. Как видно из рис.2, с уменьшением степени толерантности к засухе уменьшается количество медленно мигрирующих пептидных субъединиц и четко прослеживается тенденция увеличения

количества быстро мигрирующих субъединиц проламиновой фракции белка.

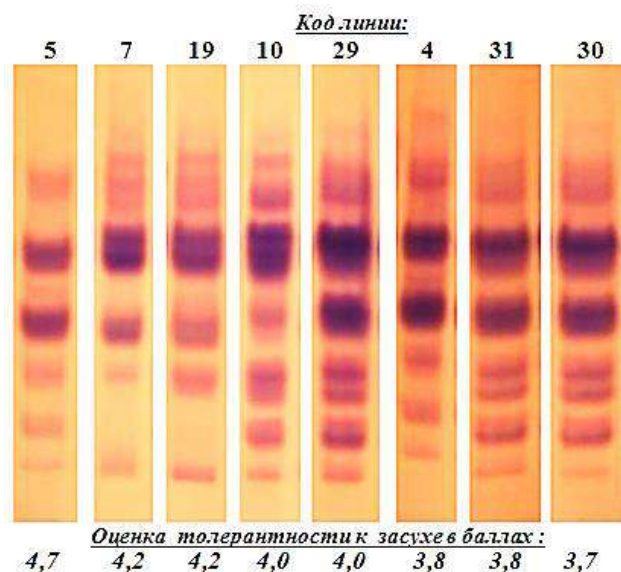


Рис.2. Электрофоретические спектры проламиновой фракции белка линий кукурузы, контрастных по толерантности к засухе: 5 – DK 427 (устойчивый); 7 – AS 1121 Florensia (среднеустойчивый); 19 – AS 708(среднеустойчивый); 10 – В 73 V2 (слабоустойчивый); 29 – AS 971-3(слабоустойчивый); 4 – МК 232 (слабоустойчивый); 31 – AS 972-3 (слабоустойчивый); 30 – AS 971–б(слабоустойчивый).

Констатируемый факт нуждается в расширенной проверке, что определяет необходимость проведения детализированной электрофоретической паспортизации линий, проходящих на первом этапе алгоритма экспресс-диагностику на биологическую чистоту. Однако, углубление этой части экспериментального исследования выходит за рамки задачи представляемой работы.

**АЛГОРИТМ
диагностирования и отбора засухоустойчивых линий кукурузы**



Рис.3.

Обобщая всю серию последовательных экспериментальных манипуляций представленной работы, нами был систематизирован первый промежуточный алгоритм диагностирования и отбора *засухоустойчивых линий* кукурузы, схема которого представлена на рис.3.

Заключение

1. На основе проведенной экспериментальной апробации 4-х ключевых методологических принципов физиолого-биохимической диагностики засухоустойчивых форм кукурузы создан первый промежуточный алгоритм диагностирования и отбора *засухоустойчивых линий* кукурузы.

2. В результате проведенной итоговой физиологической оценки на устойчивость к засухе, из изученных 82 гомозиготных генотипов кукурузы выделены следующие 8 линий: AS 592, AS 586, ДК 427, AS 585, AS 587, AS 591, AS 593 и AS 560. Эти линии, в соответствии с проводимой разработкой общего алгоритма институционального проекта [3], будут использоваться как составная часть исходного материала для экспериментальной апробации 2-го промежуточного алгоритма диагностики и подбора гибридных комбинаций самоопыленных линий кукурузы, выделенных по высокому потенциалу физиологической устойчивости к засухе.

Библиография

Boian P. The Evolution of Drought in the Summer of 2015 and its Impact on the Agricultural Sector of the Republic of Moldova//The International Conference “Life Sciences in the Dialogue of Generations”. Abstract Book. Chişinău. 2016, p.115.

Rotari A., Comarova G., Guţanu C. Standard Moldovean SM 233:2003. Seminţe de porumb. Determinarea purităţii biologice a liniilor consangvinizate şi a gradului de hibridare la seminţele hibridelor de porumb de prima generaţie prin metoda de electroforeză a proteinelor. ”Moldova-Standard”, Chişinău, 2003. 37с.

Ротарь Е.А., Ротарь А.И., Комарова Галина, Притула Г. Перспективы развития прикладной физиологии и биохимии кукурузы для сельского хозяйства Республики Молдова. Culegere jubiliară .Institutul de Fitotehnie”Porumbeni” - 40 ani de activitate ştiinţifică, Paşcani. 2014, p.205-210.

Ротарь Е.А., Ротарь А.И., Комарова Г.Е., Боунегру С.Н., Фрати С.П. Методологические принципы разработки алгоритма отбора засухоустойчивых форм кукурузы. Материалы Международной конференции «Инновационные аспекты в селекции сельскохозяйственных культур». Институт Растениеводства «Porumbeni». 2018. В печати.

Ротарь А.И. Эффективность научного сотрудничества Института Растениеводства «Порумбень» и агрономического факультета Государственного Аграрного Университета Молдов. Univ.Agrară de Stat din Moldova. Lucrări științifice, Vol. 39. Agronomie și Ecologie. Chișinău, 2013, p. 366-370.

Удовенко Г.В. Общие требования к методам и принципам диагностики устойчивости растений к стрессам. В сб.: Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: Метод. Руководство. Л. 1988. 5-10с.

INTERDISCIPLINARY APPROACH TO THE PROCESS OF DIAGNOSIS AND SELECTION OF DROUGHT-RESISTANT LINES OF MAIZE

*¹Rotari E., ¹ Rotari A., ²Comarova G.,
¹Guzun L., ¹Bounegru S., ¹Fratea S.,
¹Institute of Crop Production "Porumbeni",
²State Agrarian University of Moldova*

Abstract

The article presents the results of experimental approbation of key methodological principles of physiological and biochemical diagnostics of drought-resistant forms of maize. The first intermediate algorithm for diagnosing and selecting drought-resistant corn lines was created.

8 maize lines have been identified like drought-resistant forms (from 82 homozygous corn genotypes studied) which will be used as a component of the initial material for the experimental development of the 2nd intermediate algorithm for diagnosing and selecting hybrid combinations of self-pollinated maize lines with high potential of physiological resistance to drought.