

2. Уткина, Е.И. Урожайный потенциал сортов озимой ржи в условиях Волго-Вятского региона / Е.И. Уткина [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2020. – №1. – С. 12-17.

3. Урбан, Э.П. Озимая рожь в Беларуси: селекция, семеноводство, технология возделывания / Э.П. Урбан. – Минск: Беларус. навука, 2009. – 269 с.

4. Генетические основы селекции растений: в 4 т. Т. 2. Частная генетика растений / науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылёва; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии. — 2-е изд., испр., перераб. и доп. — Минск: Беларуская навука, 2020. – 663, [1] с.

5. Пономарева, М.Л. Исходный материал для селекции озимой ржи (SECALE CEREALE L.) / М.Л. Пономарева, С.Н. Пономарев, Г.С. Маннапова // Вестник КрасГАУ. – 2018. – №3. – С. 19-24.

6. Щеклеина, Л.М. Болезни *Secale cereale* L. в Кировской области и генетические источники устойчивости для селекции / Л.М. Щеклеина, Т.К. Шешегова // Вестник КрасГАУ. – 2020. – №6. – С.86-92.

7. Стихин, М.Ф. Озимая рожь и пшеница в Нечерноземной полосе / М.Ф. Стихин, П.В. Денисов; Изд. 2-е, перераб. и доп. – Ленинград: Колос, 1977. – 320 с.

8. Шляхтина, Е.А. Урожайность и элементы её структуры у перспективных сортов озимой ржи в условиях Кировской области / Е.А. Шляхтина, О.Н. Рылова // Международный научный сельскохозяйственный журнал. – 2019. – Т.2. – №1. – С. 33-39.

9. Парфенова, Е.С. Оценка генофонда озимой ржи по урожайности в условиях Кировской области / Е.С. Парфенова [и др.] // Аграр. наука Евро-Северо-Востока. – Киров, 2018. – Т. 66. – № 5. – С. 24-29.

10. Широкий унифицированный классификатор ржи *Secale* L. / Ф.И. Привалов [и др.] / РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». – Жодино, 2013 – 57 с.

CHARACTERIZATION OF COLLECTION SAMPLES OF WINTER RYE ON BASIC ELEMENTS OF PRODUCTIVITY

T.V.Rovdo

As a result of a comprehensive assessment of collection samples of the winter rye gene pool under soil and climate conditions of the central part of the Republic of Belarus the forms were identified that were promising for use in breeding for grain yield as sources of definite structural elements of plant productivity.

УДК 633.14«324»631[527+523]

РЕЗУЛЬТАТЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ФОРМ ТЕТРАПЛОИДНОЙ РЖИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЗАКИСИ АЗОТА (N₂O)

С.И. Гордей, кандидат биол. наук, **Э.П. Урбан**, доктор с.-х. наук,
О.Н. Карпович, научн. сотрудник, **И.С. Гордей***, кандидат биол. наук,
В.Е. Шимко, **О.М. Люсиков**, научные сотрудники

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»,

*ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

(Дата поступления статьи в редакцию 23.04.2024)

Рецензент: Буштевич В.Н., кандидат с.-х. наук

Аннотация. В статье изложены основные результаты получения новых тетраплоидных форм озимой ржи с использованием закиси азота (N₂O) в ка-

честве полиплоидизирующего реагента. Показана высокая эффективность разработанной методики. Выход тетраплоидных семян составляет в среднем 43 % при варьировании от 3,9 до 86 % в зависимости от генотипа, временного отрезка между опылением и постановкой в закись азота. Применение закиси азота обеспечивает высокий выход хромосомно сбалансированных тетраплоидов уже в первом поколении. Несмотря на ряд недостатков (нарушения в мейозе, пониженная озерненность колоса, восприимчивость к спорынье и др.) тетраплоидные сорта в Беларуси востребованы в сельскохозяйственном производстве, а также для селекции тритикале. За 2014–2023 гг. по результатам проведенных исследований созданы и включены в «Государственный реестр сортов Республики Беларусь» три сорта озимой тетраплоидной ржи: Белая Вежа (2014), Росана (2019), Камея-16 (2021). Сорт Камея 16 в настоящее время является контролем в Госсортоиспытании Республики Беларусь.

Рожь посевная (*Secale cereale* L.) является одной из важнейших зерновых культур, возделываемых в Восточной и Северной Европе. В Республике Беларусь посевные площади ржи установились на уровне 250–300 тыс.га. Рожь характеризуется способностью давать высокие урожаи при выращивании в условиях стресса окружающей среды, то есть при низких температурах, засухе и низком плодородии почв. Производство ржи требует относительно низких прямых затрат, из-за чего ее по праву называют культурой низкого экономического риска. Рожь обладает высоким содержанием многих благоприятных для питания соединений, таких как целый ряд химических элементов (Zn, Fe, P), бета-глюканы, биоактивные соединения; белок ржи наиболее сбалансирован по аминокислотному составу среди хлебных злаков [1]. Рожь широко используется на хлебопекарные и кормовые цели, из нее получают спирт, крахмал, биоэтанол, биогаз и др.

Стратегия селекции озимой ржи в Республике Беларусь предусматривает проведение комплексных исследований по ряду проблем, среди которых важная роль отводится созданию нового генофонда для селекции, выделению источников хозяйственно-ценных признаков, а также разработке новых методических подходов, повышающих продуктивность создаваемых сортов.

В Беларуси возделываются сорта диплоидной ($2n=14$) и тетраплоидной ($2n=28$) ржи. Тетраплоидная рожь имеет ряд преимуществ перед диплоидной, таких как большая устойчивость к полеганию за счет утолщения стебля и снижения на 10–15 % его длины, более высокое (на 0,6–2,2 %) содержание белка в зерне, пониженное содержание антипитательных веществ (5-алкилрезорцинолов и пентозанов) и более высокий потенциал продуктивности за счет увеличения на 25–30 % массы 1000 зерен [2].

За последние 20–30 лет произошло снижение посевных площадей тетраплоидной ржи в Беларуси. Если в 80–90-е годы прошлого века на долю тетраплоидных сортов приходилось порядка 90 % в структуре посевных площадей этой культуры, то в последние годы удельный вес сократился до 25 %, что связано со снижением интенсивности работ по созданию тетраплоидной ржи в

республике и, как следствие, существенным обеднением генофонда исходного материала для селекции. Прежде всего, это обусловлено трудоемкостью создания тетраплоидных форм ржи традиционным методом колхицинирования [3]. В силу его низкой эффективности (около 5 %), получаемые тетраплоидные формы происходят от единичных диплоидных растений, что существенно ограничивает генетический потенциал и разнообразие создаваемых на их основе тетраплоидных сортов-популяций, а также увеличивает продолжительность и трудозатраты на селекционный процесс. Известен также метод создания тетраплоидных форм ржи путем валентных скрещиваний диплоидных и тетраплоидных форм. Метод основан на полном удвоении генома в результате мейотической нередукции, что приводит к появлению мейотических тетраплоидов. Однако данный метод также крайне низкоэффективен – выход тетраплоидных форм составляет от 0,006 до 0,4 %.

В связи с этим возникла необходимость разработки новой комплексной методики создания тетраплоидной ржи, позволяющей повысить эффективность полиплоидизации, увеличить разнообразие исходных генотипов и улучшить показатели озерненности колоса [4].

Отработанный нами метод зиготической полиплоидизации закисью азота (N_2O) является более высокоэффективным (выход тетраплоидов ~50 %) для создания тетраплоидных форм ржи в сравнении с колхицинированием и валентными скрещиваниями. Благодаря высокой эффективности он позволяет создавать тетраплоидные формы на базе большого числа диплоидных растений, что увеличивает генетическое разнообразие получаемых тетраплоидных популяций для селекции. Воздействуя на первое деление зиготы, закись азота позволяет получать цитологически стабильные тетраплоидные формы уже в первых поколениях. Более того, закись азота как полиплоидизирующий агент не угнетает растения, обладает меньшим дополнительным мутагенным эффектом, значительно дешевле колхицина и безопаснее его в обращении [5].

Цель данной работы – исследование полиплоидизирующего эффекта закиси азота на растения современных диплоидных сортов и гибридов и создание на их генетической основе новых тетраплоидов озимой ржи.

Материалы и методы исследования

В качестве исходного материала использовали диплоидные сорта, гибриды F_1 ржи зернового направления и сорт *Заречанская зеленоукозная*, используемый на зеленую массу.

Перед цветением цветки растений кастрировали, колосья изолировали пергаментным изолятором. Спустя 2–3 дня растения выкапывали с комом земли, переносили в закрытое помещение и опыляли пылью своего сорта. Время опыления фиксировали. Обработку растений закисью азота осуществляли в специальных сосудах через 16–20 ч после опыления колосев. Время экспозиции растений в атмосфере закиси азота составляло 24 ч под давлением в 6 атм. После обработки растения с изолированными колосьями выдерживали в течение суток в тени, а затем высаживали и доращивали в полевых условиях. Ана-

лизировали озерненность колосьев, массу 1000 зерен, всхожесть семян и их пloidность. Тетраплоиды определяли по числу хромосом в метафазных пластинках корешков проростков на временных препаратах, окрашенных ацетокармином. Тетраплоидные проростки высаживали в поле на грядках отдельно по сортам. Растения во время цветения изолировали тканевыми изоляторами. Потомства первого поколения анализировали по числу хромосом.

Результаты и их обсуждение

За период селекционной работы с 2000 г. по 2024 г. в РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» получена 121 новая тетраплоидная форма озимой ржи с применением колхицина и совместно с ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» 25 форм с применением закиси азота.

Проведенные исследования по отработке методики полиплоидизации озимой ржи показали, что закись азота (N_2O) является более эффективным полиплоидизирующим агентом по сравнению с колхицином. Метод получения зиготических полиплоидов ржи закисью азота основан на воздействии на растения закиси азота в момент первого деления зиготы.

Общая схема создания исходного материала озимой тетраплоидной ржи представлена на рисунке 1



Рисунок 1. Схема создания и эффективного использования зиготических тетраплоидов ржи (*Secale cereale* L., RRRR, 4x=28), полученных закисью азота

По разработанной методике выход тетраплоидных семян составляет в среднем 43 % при варьировании от 3,9 до 86 % в зависимости от генотипа, вре-

менного отрезка между опылением и постановкой в закись азота и «чистоты эксперимента» (таблица 1).

Таблица 1. Эффективность зиготической полиплоидизации диплоидных сортов и гибридов F₁ ржи закисью азота (среднее за 2010-2022 гг.)

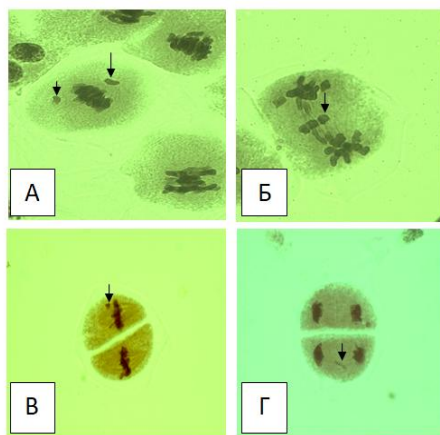
Диплоидная рожь	Время от опыления до обработки N ₂ O, ч	Количество полученных жизнеспособных семян, шт.	Выход тетраплоидов, шт.	Эффективность полиплоидизации, %
Алькора	17,5	361	14	3,9
	18,0	319	108	34,0
Юбилейная	17,0	206	41	19,7
	19,0	237	55	23,1
Зарница	17,0	644	539	83,7
Диамант	17,5	190	93	48,9
F ₁ Плиса	17,0	462	396	85,7
	17,5	329	173	52,4
	19,0	317	87	27,5
F ₁ Валдай × Каупо	16,0	126	55	43,7
ЗС-2	17,5	336	277	82,5
Голубка	16,0	315	248	78,7
	17,0	157	135	86,0
	18,0	124	30	24,2
	19,0	134	13	9,7
Златка	17,5	165	137	83,0
	18,0	278	231	83,1
Даньковский туркус	17,0	188	71	37,8
	18,0	156	97	62,2
	19,0	171	24	14,0
F ₁ МС15 × л71	17,0	298	176	59,1
	18,0	78	30	38,5
F ₁ МС24 × л476/8	16,0	215	88	40,9
	18,0	124	77	62,1
Среднее				49,4

Применение закиси азота в качестве полиплоидизирующего агента обеспечивает высокий выход хромосомно сбалансированных тетраплоидов. Цитологический анализ на примере трех сортов и гибрида F₁ показал, что частота 28-хромосомных растений в первом поколении составляла 90,3–100 %. Анеуплоиды были обнаружены в потомстве тетраплоидных растений сортов *Алькора* (1,4 %) и *Зарница* (6,7 %) и наибольшее количество – у гибрида F₁ *Плиса* (9,7 %), которые представлены растениями с 27 и 29 хромосомами (таблица 2). Миксоплоиды в потомстве полученных тетраплоидов отсутствовали.

Таблица 2. Содержание анеуплоидов у созданных зиготических тетраплоидных форм озимой ржи в первой генерации (C_1)

Тетра формы	Количество растений с числом хромосом					
	28		27		29	
	растений, шт.	%	растений, шт.	%	растений, шт.	%
Алькора	68	98,6	1	1,4	-	-
Зарница	56	93,3	3	5,0	1	1,7
Юбилейная	54	100,0	-	-	-	-
Плиса F_1	62	90,3	5	8,1	1	1,6

Цитологическим анализом установлено, что у полученных тетраплоидных форм поколений C_{2-3} имеют место нарушения при расхождении хромосом к полюсам на разных стадиях мейоза: наличие унивалентов, отставание хромосом и хроматид (рисунок 2).



А – униваленты в метафазе I; Б – отстающие хромосомы в анафазе I;

В – унивалент в метафазе II; Г – отстающая хроматида в анафазе II

Рисунок 2. Нарушения в мейозе тетраплоидных образцов ржи

В процессе исследований скорректирована и применяется в практической работе схема селекционного процесса по созданию новых образцов и сортов тетраплоидной ржи, которая выглядит следующим образом (рисунок 3).

С использованием разработанных и внедренных в селекционный процесс методов экспериментальной полиплоидии создан новый генофонд тетраплоидной ржи. На полиплоидный уровень переведены лучшие сорта и гибриды озимой ржи отечественной и зарубежной селекции (*Алькора*, *Зарница*, *Юбилейная*, *Зарница*, *Плиса F_1* , *Валдай*, *Каупо* и др.). Полученным тетраплоидным формам присвоены селекционные номера, проведено их изучение по основным селекционно-ценным признакам (таблица 3).

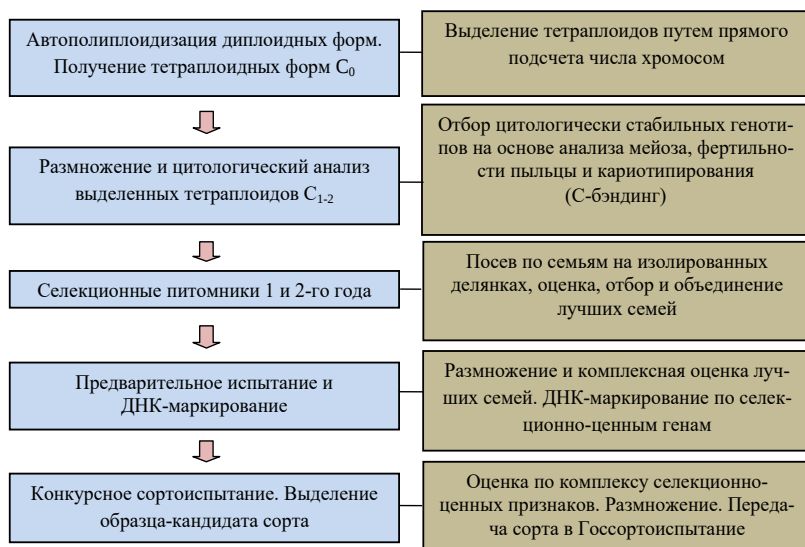


Рисунок 3. Примерная схема создания исходного материала и сортов озимой тетраплоидной ржи

Таблица 3 – Характеристика образцов тетраплоидной ржи по основным селекционно-ценным признакам генерации С₃

Образец	Высота растений, см	Продуктивная кустиность, ст./раст.	Озерненность колоса, %	Масса зерна с 1 растения, г	Масса 1000 зерен, г
Каменя 16 – контроль	119,0±2,5	5,8±0,6	68,7	7,3±0,8	51,0
ТР 1	108,8±2,9	5,6±0,8	58,4	6,4±0,6	49,9
ТР 2	120,9±3,2	5,0±0,5	67,6	5,7±1,1	40,3
ТР 3	112,7±2,5	6,2±0,6	64,8	7,2±0,8	42,7
ТР 4	119,3±2,3	5,0±0,6	60,9	7,0±1,0	49,3
ТР 5	115,9±3,0	5,4±0,6	63,9	7,9±1,1	45,0
ТР 6	119,0±2,0	6,0±0,7	63,8	6,6±1,0	44,3
ТР 7	112,5±2,0	5,2±0,5	56,5	5,3±0,6	40,3
ТР 8	120,5±2,5	5,6±0,7	56,0	6,4±0,9	41,6
ТР 9	130,4±3,6	5,3±0,6	54,3	6,0±0,9	40,5
ТР 10	117,5±2,8	5,5±0,7	62,1	6,4±0,9	40,7
ТР 11	121,2±2,5	5,0±0,6	60,9	6,4±0,8	47,2
ТР 12	128,5±2,1	4,9±0,6	63,1	5,6±0,7	44,4
ТР 13	121,8±2,6	5,2±0,6	58,5	5,1±0,7	37,4
ТР 14	124,2±2,6	4,4±0,4	50,3	4,2±0,4	42,7
ТР 15	117,5±1,9	4,6±0,5	59,5	5,2±0,6	42,6
ТР 16	112,8±1,4	5,0±0,4	62,1	4,8±0,7	38,9
ТР 17	119,3±2,7	5,2±0,8	62,5	7,1±1,8	47,7
ТР 18	123,2±1,9	4,7±0,7	64,9	6,5±0,8	49,9
D[X]	30,7	0,2	18,5	0,9	14,8

В целом, образцы были средне- и короткостебельными, высота их варьировала от 109 до 130 см. Из 18 образцов 7 были ниже стандарта. Продуктивная кустистость была на уровне 4,4–6,2 ст./раст. Озерненность колоса созданных тетраплоидных образцов варьировала в широких пределах – 50,3–67,6 %. Образцы ТР 2, ТР 3, ТР 5, ТР 6, ТР 12 и ТР 18 имели озерненность колоса, близкую к уровню контрольного сорта. Отмечено также значительное варьирование полученных тетраплоидных образцов по массе 1000 зерен – от 37,4 до 49,9 г.

Прошедшие селекционную проработку экспериментальные тетраплоиды ржи в конкурсном сортоиспытании (КСИ) в среднем за 3 года (2015–2016 гг.) по урожайности превзошли сорт-контроль *Пралеска* на 2,5–5,6 ц/га. Созданные тетраплоидные сортообразцы ржи незначительно поражались мучнистой росой, ринхоспориозом, гельминтоспориозом и септориозом (до 10 % поверхности листьев по шкале Гешеле). Содержание белка у созданных тетраплоидов превышает исходные диплоидные сорта на 1,5–2,0 % и составляет 11,6–12,8 %.

Максимально высокая гетерозиготность новых тетраплоидных популяций – основа направленного отбора. Поэтому при получении новых тетраплоидных форм большое значение уделяется разнообразию способов отбора. Массовое получение тетраплоидных генотипов позволяет сохранить генетическую структуру сортовых диплоидных популяций при переводе их на полиплоидный уровень.

Разработанная схема была апробирована в селекционном процессе и послужила основой создания новых сортов короткостебельной озимой тетраплоидной ржи. За 2014–2023 гг. исследований созданы и включены в «Государственный реестр сортов Республики Беларусь» три сорта озимой тетраплоидной ржи: *Белая Вежа* (2014), *Росана* (2019), *Каменя-16* (2021) [6]. Сорт *Каменя 16* в настоящее время является контролем в Госсортоиспытании Республики Беларусь. В 2025 г. завершится Государственное испытание сорта *Купалинка*, будет принято решение о возможности его включения в «Государственный реестр сортов». Пять образцов тетраплоидной ржи изучаются в питомнике КСИ для последующей передачи в Госсортоиспытание.

Заключение

Достигнуты значимые результаты по использованию экспериментальной полиплоидии у ржи как в практической селекции, так и ряде фундаментальных аспектов. В настоящее время полиплоидизация ржи с использованием закиси азота является самым эффективным методом. Следует отметить, что генофонд исходного материала тетраплоидной ржи в республике в настоящее время ограничен, что обусловлено отсутствием ареалов тетраплоидной ржи в природе и необходимостью создавать ее искусственно. Также во многом это связано с прекращением работ по созданию тетраплоидов в основных странах-производителях ржи (Германия, Дания, Польша, Россия). В последнее время в этих странах основное внимание уделяется селекции диплоидной и гибридной ржи.

Несмотря на ряд отрицательных факторов, тетраплоидные сорта ржи в настоящее время занимают определенный ареал в сельскохозяйственном произ-

водстве. В Республике Беларусь их удельный вес составляет 25 % площадей этой культуры. Тетраплоидные образцы ржи также широко используют селекционеры в качестве родительских компонентов при создании новых форм тритикале и секалотритикум не только у нас в стране, но и во многих странах мира, где ведется селекция этой новой синтетической культуры. В связи с этим расширение генофонда тетраплоидных форм ржи является актуальным направлением в селекции и генетике.

Литература

1. Урбан, Э.П. Озимая рожь в Беларуси (селекция, семеноводство, технология возделывания) / Э.П. Урбан. – Минск: Беларуская навука, 2009. – 269 с.
2. Урбан, Э.П. Основные результаты селекции озимой тетраплоидной ржи в Беларуси / Э.П. Урбан [и др.] // Стратегия и приоритеты развития земледелия и селекции в Беларуси. Достижения науки – производству : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 15-летию Научно-практического центра НАН Беларуси по земледелию, Жодино, 8–9 июля 2021 г. / РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» ; ред.: Ф. И. Привалов [и др.]. – Минск, 2021. – С. 179-182.
3. Гордей, И.А. Полиплоидия в селекции хлебных злаков: достижения и новые генетические подходы / И.А. Гордей // Молекулярная и прикладная генетика. – 2007. – Т. 5. – С. 8-20.
4. Урбан, Э.П. Озимая рожь / Э.П. Урбан, С.И. Гордей, И.А. Гордей // Генетические основы селекции растений : в 4 т. / Нац. акад. наук Беларуси, Институт генетики и цитологии; науч. ред.: А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск: Беларус. навука, 2010. – Т. 2 : Частная генетика растений, Гл. 3. – С. 120-155.
5. Okazaki, K. Application of nitrous oxide gas as a polyploidizing agent in tulip and lily breeding / K. Okazaki, N. Shotarou, H. Ootuka // Floriculture and Ornamental Biotechnology. – 2012. – Vol. 6, iss. 2. – P. 39-43.
6. Государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений / М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, ГУ «Гос. инспекция по испытанию и охране сортов растений; отв. ред. В. А. Бейня. – Минск, 2023. – 300 с.

RESULTS OF DEVELOPMENT OF NEW TETRAPLOID RYE FORMS USING NITROUS OXIDE (N₂O)

S.I. Gordei, E.P. Urban, O.N. Karpovich, I.S. Gordey, V.E. Shimko, O.M. Lyusikov

The main results of obtaining new tetraploid forms of winter rye using nitrous oxide (N₂O) as a polyploidising reagent are presented in the article. High efficiency of the developed technique is shown. The yield of tetraploid seeds averaged 43 %, varying from 3.9 to 86 % depending on the genotype, time interval between pollination and setting into nitrous oxide. The use of nitrous oxide ensures a high yield of chromosomally balanced tetraploids already in the first generation. Despite a number of disadvantages (disturbances in meiosis, reduced grain content per ear, susceptibility to ergot, etc.), tetraploid varieties in Belarus are in demand in agricultural production, as well as for triticales breeding. For 2014-2023, based on the results of the research, three varieties of winter tetraploid rye were developed and included into the "State Register of Varieties of the Republic of Belarus", such as: Belaya Vezha (2014), Rosana (2019), Kameya 16 (2021). The variety Kameya 16 is currently a control in the State Variety Trials of the Republic of Belarus.