

ОСОБЕННОСТИ СКРИНИНГА РЕГЕНЕРАНТОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ФОРМ, УСТОЙЧИВЫХ К ЗАСУХЕ

Н.Н. Черкасова

Т.П. Жужжалова, доктор биологических наук
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова»
e-mail: biotechnologiya@mail.ru

Аннотация. Изучено влияние сорбита и маннита на ростовые процессы микроклонов сахарной свеклы. Определена оптимальная концентрация маннита и сорбита для выявления и создания форм, устойчивых к засухе. Выявлена возможность использования селективных систем, как с сорбитом, так и с маннитом для создания толерантных линий к дефициту воды.

Ключевые слова: сахарная свекла, маннит, сорбит, засуха, стресс, питательные среды, устойчивость.

Одной из глобальных проблем современности является изменение климата, сопровождающееся учащением засухами и представляющее серьезную угрозу для сельского хозяйства. Даже непродолжительные периоды нехватки влаги (14–21 дней) в совокупности с высокими температурами могут негативно сказываться на формировании урожайности. Поэтому выделение форм сахарной свеклы с устойчивостью к осмотическому стрессу является актуальной проблемой [1, 2].

Одним из перспективных подходов создания стрессоустойчивого материала является биотехнологический метод селекции *in vitro*. В настоящее время разработаны селективные системы для отбора форм, толерантных к осмотическому стрессу [3, 4, 5]. Для имитации засухи применяют растворы осмотических агентов (маннит, полиэтиленгликоль). Известен химический изомер маннита – сорбит, который используется в пищевой промышленности как заменитель сахара, выпускается в больших количествах и в несколько раз дешевле маннита.

Необходимо было определить, является ли сорбит аналогом маннита по своему действию на растения, а также оценить возможности использования этих органических соединений для получения засухоустойчивых форм сахарной свеклы и сравнить эффективность двух селективных систем.

Научные исследования выполнены на базе лаборатории культуры тканей и молекулярной биологии ФГБНУ «Всероссийский НИИ сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова» с использованием биотехнологических методов культуры *in vitro* [6].

В работе были использованы генотипы сахарной свеклы Рамонской селекции, а в качестве эксплантов – микроклоны, зрелые зародыши семян культуры. Для моделирования засухи к основной среде добавляли маннит и сорбит в различной концентрации (0,25–0,60 М).

Проведенные исследования показали, что в условиях стресса, вызванного сорбитом, происходят изменения в процессе роста растений. Так, при концентрации от 0,25 до 0,35 М отмечали заметное снижение роста микроклонов, пожелтение листьев. Выживаемость при этом составила 68–80 % (табл.).

Таблица. Морфологические показатели микроклонов сахарной свеклы под влиянием сорбита и маннита в питательной среде *in vitro*

Генотип	Концентрация селективного агента (М)	Прирост высоты, %		Выживаемость, %	
		сорбит	маннит	сорбит	маннит
МС форма	0	44,0	44,0	88,0	88,0
О-тип		40,9	40,9	90,0	90,0
МС форма	0,25	30,0	21,69	78,0	75,0
О-тип		21,0	15,27	80,0	79,0
МС форма	0,30	37,1	15,48	71,0	70,0
О-тип		20,3	13,59	75,0	72,0
МС форма	0,35	25,0	11,76	68,0	65,0
О-тип		20,0	11,46	71,0	68,0
МС форма	0,40	8,0	6,7	58,0	51,0
О-тип		9,0	4,99	60,0	52,0
МС форма	0,45	5,9	5,5	52,0	48,0
О-тип		6,3	3,31	54,0	47,0
МС форма	0,50	0	0	0	0
О-тип		0	0	0	0

В случае с использованием маннита в качестве селективного агента также выявили большое уменьшение роста микроклонов и пожелтение листьев при концентрации 0,25–0,35 М и выживаемости 65–79 %.

Увеличение концентрации как маннита, так и сорбита до 0,40–0,45 М приводило к значительному сокращению ростовых характеристик: снижению роста, пожелтению листьев. Однако точки роста оставались живыми и сохраняли способность к регенерации. Выживаемость составила от 6,3 до 9,0 % на сорбите и 3,3–6,7 % – на манните. На средах с концентрацией селективных агентов 0,50 М и выше было выявлено более выраженное угнетение роста. Отмечался некроз листьев, что приводило к массовой гибели регенерантов (рис. 1).

По-видимому, действие стресса приводило к снижению тургора листьев, изменению коллоидно-химических свойств цитоплазмы клеток (вязкость, эластичность) и проницаемости клеточных мембран. Эти изменения неблагоприятно отражались на процессе роста растений, замедляя его [7, 8].

Проведенные эксперименты показали, что при использовании сорбита для создания условий засухи растения реагировали на стресс практически так же, как и при использовании для этих целей раствора маннита. В то же время, следует отметить, что в опытах с маннитом создавались несколько более жесткие стрессовые условия. Однако различия были столь незначительными, что ими можно было пренебречь. В связи с этим выявлена сублетальная концентрация маннита и сорбита (0,40–0,45 М), которая в дальнейшем была применена для моделирования засухи и отбора устойчивых микроклонов в условиях *in vitro*.

Использование в качестве эксплантов зрелых зародышей семян показало снижение их всхожести при увеличении селективной нагрузки. В начальной фазе развития отмечали прорастание во всех вариантах питательных сред. В дальнейшем рост проростков и выживаемость снижались при увеличении селективной нагрузки. При высоких концентрациях 0,60–0,70 М, как сорбита, так и маннита, отмечали стабильное

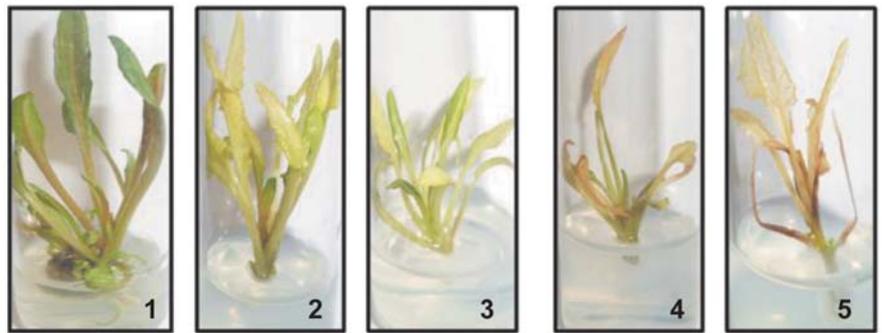


Рисунок 1. Развитие микроклонов сахарной свеклы при увеличении концентрации маннита и сорбита (М): 1 – 0; 2 – 0,30; 3 – 0,40; 4 – 0,45; 5 – 0,50

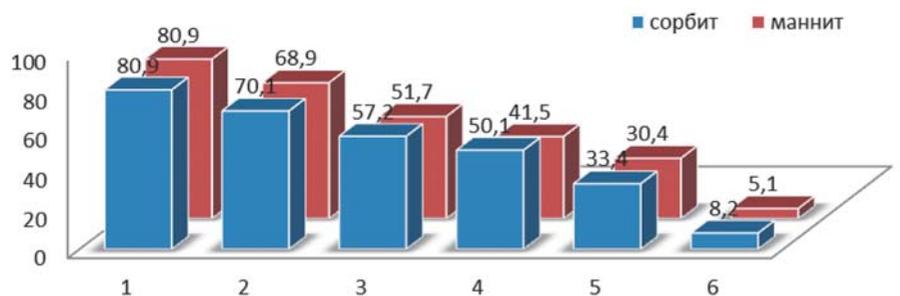


Рисунок 2. Изменение активности прорастания семян сахарной свеклы при различных концентрациях сорбита и маннита (М) (среднее для генотипов) *in vitro*: 1 – 0; 2 – 0,30; 3 – 0,35; 4 – 0,45; 5 – 0,50; 6 – 0,60

подавление регенерации, проростки темнели, имели стекловидный стебель, подвергавшийся некрозу, листья становились мельче. Наблюдалось стабильное подавление регенерации до 5,1–8,2 %, что приводило к гибели проростков (рис. 2).

Оптимальной оказалась среда с содержанием селективного агента 0,45–0,50 М, где выживаемость варьировала от 5,0 до 20,3 % в зависимости от генотипа (рис. 3).

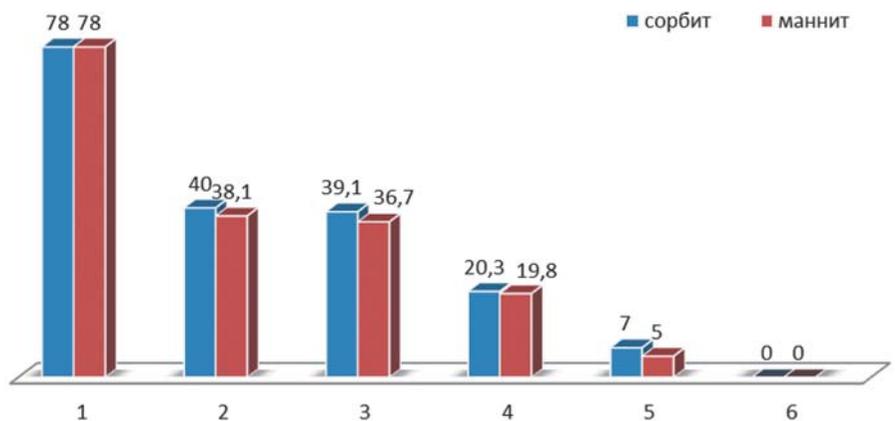


Рисунок 3. Влияние различных концентраций сорбита и маннита (М) на выживаемость проростков (среднее для генотипов) сахарной свеклы *in vitro*: 1 – 0; 2 – 0,30; 3 – 0,35; 4 – 0,45; 5 – 0,50; 6 – 0,60

Получение регенерантов в более жестких условиях (0,45–0,50 М), по-видимому, было обусловлено содержанием питательных веществ в зародыше семени, которые участвуют в регуляции метаболических процессов при прорастании [9].

Проведенные исследования позволили оптимизировать состав селективной питательной среды для получения регенерантов сахарной свеклы с устойчивостью к засухе в условиях *in vitro*. Выявлена сублетальная доза сорбита и маннита (0,40–0,45 М) для отбора устойчивых к засухе регенерантов из микроклонов. Оптимальной для отбора устойчивых регенерантов из зрелых зародышей семян явилась концентрация 0,45–0,50 М. Исследования показали, что зрелые зародыши семян оказались наиболее устойчивы к действию сорбита и маннита, выживаемость при этом варьировала от 5,0 до 20,3 %. Выявлены оптимальные условия селективной системы для отбора устойчивых к засухе регенерантов сахарной свеклы, которые будут использоваться в селекционном процессе при создании линий.

В результате проведенной работы методом клеточной селекции были получены растения сахарной свеклы, которые по физиологическим показателям и интенсивности роста имели более высокую устойчивость к засухе, чем исходные растения. Это свидетельствует о возможности использования селективных систем, как с сорбитом, так и маннитом для отбора толерантных линий к дефициту воды.

Список литературы

1. Кошкин, Е. И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных растений / Е.И. Кошкин - М.: Дрофа, 2010. - 638 с.
2. Кудоярова, Г.Р. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды / Г.Р. Кудоярова, В.П. Холодова, Д.С. Веселов // Физиология растений. - 2013. -Т. 60. - № 2. - С. 155-165.
3. Никитина, Е.Д. Разработка отдельных элементов технологии клеточной селекции яровой пшеницы на устойчивость к абиотическим стрессам / Е.Д. Никитина, Л.П. Хлебова, О.В. Ерещенко// Известия Алтайского государственного университета. - 2014. - Т. 2. - № 3. - С. 50-54.
4. Россеев, В.М. Тестирование *in vitro* яровой мягкой пшеницы на засухоустойчивость / В.М. Россеев, И.А. Белан, Л.П. Россеева // Вестник Алтайского ГАУ. - 2011. - Т. 76. - № 2. - С. 32–34.
5. Аль-Холани, Х.А.М. Определение концентрации маннита для использования в процессе клеточной селекции на устойчивость к засухе у кукурузы / Х.А.М. Аль-Холани, Ю.И. Долгих // Вестник РУДН, сер. Агрономия и животноводство. - 2007. - № 1-2. - С. 38-42.
6. Знаменская, В.В. Микроклонирование *in vitro*

как метод поддержания и размножения линий сахарной свеклы / В.В. Знаменская // Энциклопедия рода *Beta*: Биология, генетика и селекция свеклы. - Новосибирск, 2010. - С. 420-437.

7. Шакирова, Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция / Ф.М. Шакирова. - Уфа: Гилем, 2001. - 160 с.

8. Титок, В.В. Биоэнергетическая концепция гетерозиса / В.В. Титок // Доклады Национальной академии наук Беларуси. - 2003. - Т. 47. - № 4. - С. 84-89.

Features of screening of sugar beet regenerants in obtaining drought-resistant forms

N.N. Cherkasova, T.P. Zhuzhzhhalova

Summary. The effect of sorbitol and mannitol on the growth processes of sugar beet microclones was studied. The optimal concentration of mannitol and sorbitol was determined to identify and create drought-resistant forms. The possibility of using selective systems with both sorbitol and mannitol to create tolerant lines to water deficiency was revealed.

Key words: sugar beet, mannitol, sorbitol, drought, stress, nutrient media, resistance.

ИНФОРМАЦИЯ

Аграриев Кубани в 2024 году обеспечат на 30-40 % отечественными семенами сахарной свеклы

В Краснодарском крае к 2024 г. аграриев обеспечат отечественными семенами сахарной свеклы на 30-40 %, сообщает пресс-служба администрации региона. По поручению губернатора края Вениамина Кондратьева в ближайшее время в регионе заложат 150 га семенных участков отечественным посевным материалом сахарной свеклы.

Как сообщал сайт «Деловая газета. Юг», ранее в Краснодарском крае планировали разработать региональную программу развития семеноводства сахарной свеклы. Она будет включать в себя комплекс мероприятий по импортозамещению в семеноводстве сахарной свеклы. Документ разработает ФГБНУ «Первомайская селекционно-опытная станция сахарной свеклы» при поддержке краевого министерства сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности.

В 2021 г. валовый сбор сахарной свеклы на Кубани составил 9,6 млн т с площади 191 тыс. га, из которых около 10,7 тыс. га (5,6 %) было засеяно сортами отечественной селекции. В 2022 г. этот показатель увеличен до 10 %.

«Деловая газета. Юг»