

О.М.Гриб, доктор биологических наук
Белорусский НИИ земледелия и кормов

УДК 631.527.004.12

Актуальные аспекты селекции растений на качество

Обоснована необходимость постоянного совершенствования концепции злакового растения. Для этого предложена схема анализа селекционного материала. Рассмотрены методы получения исходного материала при селекции на качество

Селекция на качество любой сельскохозяйственной культуры — есть выбор эволюционного пути вида в направлении достижения компромисса между потребностью человека и биологической возможностью данного вида.

Производство фуражного зерна ячменя содержит в себе два аспекта: агрономический и зоотехнический.

Агрономический — предполагает повышение валового сбора зерна с единицы площади и при достигнутом уровне потенциальной урожайности. Вероятно, основное внимание следует уделить устранению причин, мешающих реализации этого потенциала. Главными из них являются:

- устойчивость к болезням и вредителям;
- уровень порога реагирования на экстремальные факторы среды;
- поглощение питательных веществ из труднодоступных соединений почвы и конкуренция за них с сорняками.

Селекция ячменя за последние 20 лет достигла значительных результатов, главными из которых являются: 1) достижение потенциальной урожайности уровня 100 ц/га; 2) решение проблемы полегания путем снижения высоты растений и генотипического преобразования морфотипа куста в фазу кушения, что повысило устойчивость к плотному моноценозу на повышенных фонах питания благодаря рецессивному гену ечк; 3) преодоление достоверно-отрицательной связи между урожайностью и содержанием белка в зерне.

Большинство сортов защищены специальными генами против отдельных болезней. Известны механизмы устойчивости злаков против тли, в жизненном цикле которой решающую роль играют воска листьев. Если заблокировать накопление нужных для тли фракций воска в зеленых листьях, тля не сможет переходить из одной стадии развития в другую, т. е. на таких растениях не сможет развиваться.

Имеет место своеобразный перекресток между качеством зерна и устойчивостью к абиотическим факторам среды. Так, известно, что резорцинолы, алкалоиды, эруковая кислота и глютаминовая аминокислота, фенольные соединения участвуют в механизмах, обеспечивающих устойчивость к стрессовым значениям фактора среды для соответствующих культур. Чем больше накапливается их, тем устойчивее генотип, но хуже по качеству. Например, в ответ на стресс в клетках растения ячменя резко повышается уровень свободной глютаминовой аминокислоты и пролина (20,21). Этот уро-

The necessity of constant improving of the cereal plant conception is substantiated. The scheme of analysis of selection material is provided for this purpose. Methods of receiving of initial material at quality selection are considered

вень должен быть ниже блока, запрещающего синтез белков гордеинов лиз-генами. В противном случае происходит реверсия лиз-гена у ячменя. Такая же ситуация с эруковой кислотой у рапса, алкалоидами у люпина и т. д. Поэтому наряду с клеточными механизмами устойчивости нужны и другие.

Между продуктами корневого питания и продуктами фотосинтеза сохраняется динамичное равновесие в течение всего онтогенеза. В эволюционном плане с увеличением минерального питания росла урожайность, но падала нитратредуктазная восстановительная активность корней (15). Современное злаковое растение характеризуется тем, что:

- восстановительные процессы происходят и в надземных органах на свету;
- наряду с транслокацией метаболитов в зерно значительную долю занимает инлокация — (с корня в зерновку);
- снижена агрегатизация запасного белка в зерновке.

Нужна новая концепция современного злакового растения.

Зоотехнический — сводится к качеству фуражного зерна, ибо оно является средством достижения конечной цели — повышения продуктивности животных. Рентабельность растениеводства автоматически зависит от окупаемости фуража.

Решение проблемы качества зерна до середины 80-х годов виделось агрохимическим путем (18). Однако повышение фона минерального питания увеличивало содержание белка в зерне в основном за счет запасных белков гордеиновой фракции, которая очень бедна лизином (8,91422).

Такое решение проблемы качества зерна, с одной стороны, обостряло экологическую ситуацию в республике, во-первых, потому, что не востребованные удобрения не интенсивными сортами смывались в водоемы и этим наносился вред экосистемам, во-вторых, повышение белка в зерне усиливало дисбаланс аминокислот в белке, в частности по лизину. Белок становился не комплектным (14, 23). Дисбаланс белка по лизину приводил к тому, что значительная часть аминокислот, усваиваясь в кровь животного, не использовалась им, а транзитом уходила в навоз, причиняя лишь вред животному организму (19). С другой стороны, за счет того, что азот в виде органических кислот, в том числе и аминокислот, возвращался опять в почву, заметно возрастало плодородие, увеличивался ее органический компонент. Цель достигалась во втором или третьем круге общего кругооборота азота, увеличивая

энергетические расходы на получение продукции.

Двухкамерные животные расщепляют белок до амиака и сами синтезируют все аминокислоты. Для них полезен любой белок.

У однокамерных животных, как и у человека, белок расщепляется до аминокислот. Причем 9 из них в организме не синтезируются и должны регулярно поступать с кормом — лизин, метионин, валин, изолейцин, лейцин, треонин, триптофан, фенилаланин.

Аминокислоты используются организмом в качестве материала для построения собственных белков, а также отдельные аминокислоты осуществляют азотный обмен отдельных функций организма. Так, триптофан переаминируется в мозгу в триптомин и норгорман, метионин осуществляет "запуск" биосинтеза собственных белков в печени, аргинин питает иммунную систему, а лизин — систему воспроизведения. Между функциями существует определенная взаимосвязь. Следовательно, и соотношение аминокислот в корме для разных групп животных в возрастном, видовом и половом аспекте должно быть разным. Между глутаминовой аминокислотой и лизином выявлен своеобразный антагонизм на микроорганизмах, личинках мучного хрущака (2) и на свиньях, привесы которых были ниже на зерне ячменя с высоких доз азота по сравнению с низкими при одинаковых добавках лизина. Следовательно, критерием ценности белка корма является соотношение аминокислот-антагонистов. Лучшим соотношением для глутаминовой аминокислоты и лизина является 3—4, а при достижении 6 привесы личинок мучного хрущака резко падают. Для других дефицитных аминокислот такой информации нет и это делает селекцию на качество зерна у ячменя менее целенаправленной.

Проблема потребительского качества зерна приобрела актуальность не только у ячменя, но и у других сельскохозяйственных культур. Ведутся работы по созданию кормовой ржи (без резорцинолов и пентазанов). Создана высоколизиновая кукуруза, районированы сорта безрзучкового рапса, безалкалоидного узколистного люпина, безингибиторной сои.

Новая зерновая культура тритикале имеет кормовые достоинства зерна выше, чем пшеница или рожь. Однако сорта по качеству зерна различаются иногда как исходные культуры. Так, сорт Мально имеет автолитическую активность 27,3%, линия Г-1529—27,0% у сорта Дубрава и сортообразца №115 этот показатель составляет 55,0%. У пшеницы автолитическая активность находится на уровне 25,0—28%, у ржи — 55—57%. Происходит это потому, что у разных сортов разная степень экспрессии генов пшеницы и ржи.

У каждой культуры свой путь к повышению потребительского качества зерна селекционным путем. Как показано в таблице, для одних культур требуется снижение антипитательных веществ (рожь, рапс, люпин, горох, соя), для других — повышение лимитирующего фактора (дефицитной аминокислоты). Так, для кукурузы и ячменя таковой является лизин, для люпина и гороха — метионин. Тритикале сегодня считается кормовой культурой, но это, несомненно, в будущем хлебная — потому что это единственный злак, который имеет генотипическое разнообразие по содержанию триптофана (16). Повысить его уровень в хлебе — крайне важно для общества.

Снижение антипитательных веществ и повышение содержания дефицитных в данном случае аминокислот для ряда культур решается двумя путями: донорной селекцией и методом рекомбинационного синтеза.

У полиплоидной культуры пшеницы многие авторы качество зерна связывают с присутствием генома D, а тритикале скрещивают с пшеницей для улучшения хлебопекарных свойств зерна. Гибриды между тритикале и пшеницей, а также между разными видами пшениц можно получить только используя культуру эмбрионов *in vitro*.

В донорной селекции всех культур имеют место одни и те же трудности, препятствующие быстрому прогрессу.

1. Проблема подбора родителя реципиента, который должен:

- быть компетентным для экспрессии гена (ов) донорного признака;
- не иметь сильных регуляторных генов признака,

Таблица. Принципы и методы селекции на качество зерна сельскохозяйственных культур

Принципы	Методы	Культуры							
		рожь	рапс	люпин	горох	кукуруза	ячмень	пшеница	тритикале
Снижение антипитательного вещества	Донорная селекция	пентозаны	эруковая кислота	алкалоиды	стахиоза		В-глоканы		
	Рекомбинационный синтез	резорциноны	глюкозинолаты		рафиноза				
Повышение лимитирующего фактора	-«-			метионин	метионин	лизин	лизин		триптофан
Реконструкция генома	Межвидовая межродовая гибридизация	тритикале						твердая пшеница тритикале	пшеница

альтернативного донорному;

— иметь ген, защищающий от реверсии донорного признака к дикому типу (гены термошоковых белков);

— иметь максимально выраженный признак, компенсирующий снижение урожайности (кустистость на ячмене).

2. Сцепление генов. Один ген или локус тесносцепленных генов часто контролирует селекционно-ценный признак (признаки) и ряд нежелательных признаков. В ходе селекции ставится задача разорвать эту сцепленность.

Так, например, с помощью гена ечк была решена проблема полегания у ячменя. Ген детерминировал высокую кустистость, синхронность побегообразования, одноярусность колосьев, устойчивость к плотному моноценозу: низкорослость, среднюю длину колоса и мелкое зерно. В ходе селекции преодолели генетическую детерминацию по длине колоса и повысили массу зерна, вместе с этим снизили кустистость и устойчивость к плотному моноценозу. С некоторыми сортами в производстве опять появляется проблема полегания. Противостоять ей можно ресинтезом гена ечк на новом генетически закрепленном уровне зерновой и белковой продуктивности. Возможно, следует сохранить двухъярусность колосьев как механизм устойчивости к неблагоприятным факторам среды на уровне растения.

3. Реверсия генов наблюдается при донорной селекции у ячменя по различным признакам и свойствам. Например, нами создан донор безостости с доминантным типом наследования, причем на рецессивном морфотипе, что позволило избежать сцепленности с другими нежелательными признаками. На его основе создан ряд безостых образцов. У одного из них на делянке 10 м² встречались растения, у которых на колосьях подгона на верхних колосках колоса цветочная чешуя заканчивалась нормально развитой остью. Колос подгона формировался на другом этапе развития растения. При этом был другой фитогормональный фон для экспрессии гена безостости.

Второй пример. Наша линия к 27344 с геном лиз 1 в фазу проростка была подвергнута воздействию температурой в такой степени, что листья засохли, а из пазухи затем появились новые. Зерно у переживших термо-стресс растений было без вмятины и без повышенного содержания лизина.

Синтез термошоковых белков (БТШ) помогает растению выжить в экстремальных температурных условиях и передается по наследству (1). Вероятно, гены БТШ могут быть использованы для создания системы "ген защищает ген".

Метод рекомбинационного синтеза позволяет создавать новые гены, новые доноры на современном селекционно продвинутом материале или новые уникальные сочетания признаков. Известны механизмы, лежащие в основе рекомбинационных процессов: гетерозиготность, кроссинговер, дубликации и другие. Получение максимального или минимального выражения признака, свойственного виду, достигается при:

— неаллельном взаимодействии генов на двух уровнях генетического контроля признака. Например, на уровне всего электрофоретического спектра гордеино-

вой фракции и зоны этого спектра или общего содержания белка и спектра гордеинов (3).

— взаимодействию генов на трех уровнях - генотипа, результирующего параметра (модуля) и признака. Например, две формы различаются по высоте растения, длине колоса и длине ости.

— взаимодействию структурных и регуляторных генов сложного признака — число компонентов в спектре и степень их выраженности (18).

— взаимодействию генов в пределах двух сложных признаков — морфотип листа и корневой системы.

Ряд из этих вопросов успешно решается с помощью биохимических маркеров. Существует не менее четырех механизмов, благодаря которым биохимические маркеры могут вовлекаться в отбор по признакам продуктивности и качества.

Первый:

— прямое участие в отборе метаболической реакции, регулируемой маркером - белком;

— отбор генотипов с лиз-геном по гордеиновым спектрам у ячменя, отбор с геном Опак-2 у кукурузы (6, 20);

— отбор по спектрам ингибиторов протеаз и амилаз на устойчивость к прорастанию и некоторым болезням у ржи и тритикале (11, 12);

— белки теплового шока (БТШ).

Второй:

— сопряженность метаболического процесса, регулируемого данным маркером с признаками продуктивности, сцепленность хозяйственно-полезных и биохимических признаков в метаболическую цепочку;

— скорость окислительно-восстановительных реакций в митохондриях связана с урожайностью;

— высокая активность нитратредуктазы повышает КПД использования удобрений прибавкой урожая (14, 15);

— глютаминовый индекс используется для ранней диагностики на качество в селекции пшеницы (13).

Третий:

— тесное сцепление структурного гена биохимического маркера с генами, ответственными за развитие хозяйственно-полезного признака;

— сюда относится маркирование у ячменя генов устойчивости к мучнистой росе М1-к и М1-а через локусы гордеинов, которые имеют следующий линейный порядок: М1-к - 4,0 ± 1,3 - Ноч 1 (ω) - 5,3 ± 1,1 - М1-а - 6,1 ± 1,2 - Ноч 2 (β);

— R геном у тритикале, D-геном у пшеницы;

— трансгенные генотипы во всех сельскохозяйственных культурах, в обязательном порядке, маркируются белками.

Четвертый:

— объединение генов в единый коадаптированный комплекс, в котором одновременно могут присутствовать гены биохимических маркеров и хозяйственно-полезных признаков, не имеющих прямого генетического сцепления, но характеризующихся взаимосвязанной изменчивостью генных частот (5). Есть основание полагать, что определенную роль в такой взаимосвязи может играть общая регуляция процессов рекомбинации в разных участках генома;

— характеристика комбинаций скрещивания по уровню, направлению и интенсивности рекомбинационных процессов по запасным белкам (26);

— использование полиморфизма белкового комплекса в качестве модели сложного признака с целью изучения общей генетической регуляции.

Зерно ячменя не содержит антипитательных или токсических веществ алкилрезорцинолов (как у ржи), антивитаминов (кукурузы), лектинов (пшеницы), танинов (сорго), поэтому в неограниченных количествах поедается животными (10). Улучшение его селекционным путем имеет ряд направлений — продовольственное, фуражное и пивоваренное.

При оценке на крупяные качества важным является количество сложных углеводов — клетчатки и особенно лигнина. Их содержание влияет на развариваемость каш. Чем больше лигнина, тем больше требуется времени для разваривания. С другой стороны, лигнин и его производные оказывают профилактическое и лечебное действие при гастритных заболеваниях у людей.

Наибольшее внимание в селекционных программах на качество зерна у ячменя уделяется содержанию белка в зерне и улучшению его качества. Однако это направление имеет ряд специфических особенностей:

— общее содержание белка в зерне в одних случаях обусловлено белоксинтезирующей способностью генотипа, контролируется доминантными генами, а в других редукцией синтеза небелковой части зерновки и детерминируется рецессивными генами. Процентное содержание показывает концентрацию белка в зерне, но не характеризует генотипы по способности к его синтезу. Два генотипа могут обладать одинаковой белоксинтезирующей способностью и накапливать по 5 мг на 1 зерновку. У первого масса 1000 зерен равна 50 г, отсюда концентрация составит 10%, у второго масса зерна 29 г — концентрация соответственно будет равна 17,2%. Высокое содержание белка обусловлено аддитивным взаимодействием рецессивных генов, блокирующих небелковую часть зерновки, по этой причине наследуется рецессивно. Такие генотипы оказываются плохими донорами, но их можно использовать в рекомбинационной селекции.

Второй особенностью является то, что белковый комплекс зерновки состоит из четырех фракций, имеющих разную структурно-функциональную значимость для растения и потребительскую ценность, обладающих высокой биохимической полиморфностью и генетической полигенностью. Причем компоненты разных фракций обладают разным типом генетической регуляции.

Так, гордеины имеют четыре зоны (группы компонентов) (по Конареву) α , β , ν , φ . Причем «пустой гель» может быть на позиции любой из этих зон независимо от других, что указывает на определенную структуру генетической регуляции, тогда как компоненты водорастворимой и солерастворимой фракций проявляют каскадный или ферментный тип генетической регуляции.

3. Сорты экстенсивного типа характеризуются преимущественной формой транспорта транслокацией. Сорты интенсивного типа наряду с транслокацией обладают вы-

соким уровнем инлокации. Образцы с активным поглощением азота в период между цветением и созреванием и прямым перемещением его в зерновку тратят энергии на синтез единицы белка меньше, чем образцы с транслокацией. Скрещивание образцов, обладающих высокой инлокацией, с линиями с высокой транслокацией дает формы, сочетающие высокий урожай и белковистость зерна (22).

По этой причине утилизация минерального азота в белок является генотипически обусловленным процессом. Выявлено три типа реакции на повышение минерального питания. Содержание лизина в муке значительно снижали сортообразцы с реакцией типа «а» с повышением доз минерального питания. В другой группе «б» содержание лизина увеличивалось, а в третьей наблюдается промежуточный тип «в», где на втором фоне увеличивается содержание лизина в навеске (цельносмолотого зерна), а на третьем снижается до первоначального уровня (рис.).

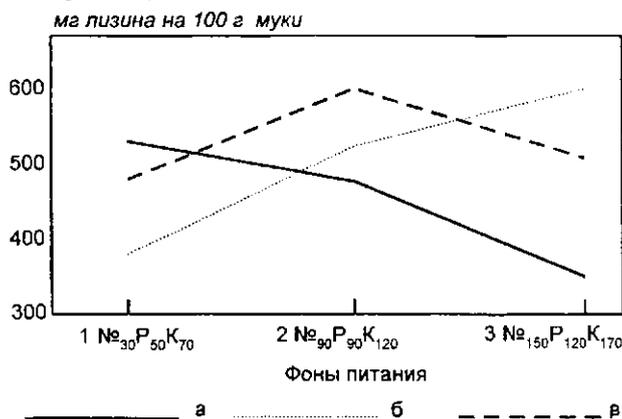


Рис. Типы реакций сортообразцов ячменя на дозы минеральных удобрений

Расходуя 1 г глюкозы, полученной от ассимиляции, растение может синтезировать 0,4 г белка и 0,83 г углевода.

Взаимосвязь генотип-среда осуществляется по 4 каналам — макро- и микроэлементы, CO₂ энергия солнца и геофизические показатели — геомагнитное и гравитационное поля, индуцирующие фитогормоны — ауксины, гибберелины, цитокинины, брассиноиды, активность, которых определяет соотношение белковых фракций в зерне.

Следовательно, повысить белоксинтезирующую способность растения возможно собрав в одном генотипе необходимые гены по перечисленным признакам и свойствам, образуя сильную сцепку их в онтогенезе. Создать генотип экологически независимый, следовательно, генетически детерминировать содержание белка в зерне и соотношение его фракций.

Введение лиз-генов (лиз 1, лиз 3) в геном ячменя изменяет аминокислотный состав белка в пользу незаменимых аминокислот. Так, содержание лизина в белке повышается до 4—5%, а содержание глутаминовой аминокислоты снижается до 13—20%, потому что упомянутые гены с разной степенью блокируют синтез запасных белков гордеинов и усиливают накопление индивидуальных лизин богатых белков альбуминовой фракции (17).

Показатель биологической ценности белка O (соот-

Схема
Генетико-биохимические аспекты улучшения качества зерна

Повышение переваримости	Повышение усвояемости	Белковые маркеры		Генетика признаков качества
		Качество зерна	Устойчивость	
		1. Нитрат редуктаза	1. Термошоковые белки	
		2. Глютениновый индекс	2. Ингибиторы протеаз	

Методы их решения

Биохимические методы			Генетические методы			
Антипитательные вещества	Группа белка			Межвидовая межродовая гибридизация	Донорная селекция	Метод рекомбинационного синтеза
	Общий №	Аминокислоты	Электрофорез			

Предполагаемые результаты

Методы создания сортов с улучшенным качеством	Доноры по отдельным признакам	Сорта с улучшенным качеством зерна	Паспортизация сортов, гибридов в семеноводстве
---	-------------------------------	------------------------------------	--

ношение глютаминовой аминокислоты к лизину) у высоколизиновых линий колеблется от 4 до 2,7, тогда как у нормальных в зависимости от года и генотипа этот показатель равен 6—16 (6).

Образцы ячменя с высоким содержанием лизина в белке, обусловленным лиз-генами, называются лизиновым ячменем (от названия гена) или высоколизиновым (от выражения признака). Основные проблемы лизинового ячменя, требующие своего решения, - это низкая масса 1000 зерен, которая от года и генотипа варьирует от 26 до 44 г и стабильность высокого, генотипически детерминированного, уровня лизина в белке. В целом генетико-биохимические аспекты улучшения качества зерна представлены на схеме. Получаемая информация от анализа селекционного материала по представленной схеме позволит постоянно дополнять и совершенствовать концепцию злакового растения.

В настоящее время эволюция видов, независимо от географической широты (Швеция, Египет), идет в направлении повышения зерновой продуктивности. При этом важно знать:

- отношение селективируемого признака к этому направлению;
- влияние среды на экспрессию генов селективируемого признака;
- степень совпадения цели селекции со структурно-функциональной ролью селективируемого признака в системе растения.

Литература

1. Андерсон Джеймс В. и др. Белки ТШ-70кД кодируются мультигенным семейством // Физиология растений, -1994, -№4, С.1359-1370.
2. Гриб О.М., Гриб С.И. Способ получения высоколизиновых форм ячменя. авт.св. №1436294 // Открытия и изобретения. М. 1988.
3. Гриб О.М. Характер изменчивости признаков при неаллельном взаимодействии генов. // Доклады ВАСХНИЛ, 1990. -№6. -С.9-13
4. Гриб О.М. Генетический контроль признаков при селекции лизинового ячменя. автореферат докт. дис. С.-П. 1995.

5. Гриб О.М., Линьков В.В., Богомолов А.М. Прогнозирующая способность электрофоретического спектра гордеинов в селекции ярового ячменя. Земледелие и растениеводство в БССР. БелНИИЗК.-Жодино. 1991. С.31-39.

6. Гриб О.М., Павлович Л.М., Артюхович И.М. Селекция кормового ячменя с использованием лиз-генов. // Роль адаптивной интенсификации земледелия в повышении эффективности аграрного производства, Сб. трудов БелНИИЗК.-Жодино. -1998.-Том. 2, с.253-255.

7. Драгавцев В.А. Алгоритмы эколого-генетической инвентаризации генофонда и методы конструирования сортов сельскохозяйственных растений по урожайности, устойчивости и качеству. ВИР-Санкт-Петербург.-С.48.

8. Левицкий А.П. Биохимические основы селекции на повышение кормовых достоинств зерна злаков // Сб. Проблемы селекции злаковых и бобовых культур на кормовую ценность зерна. ВГСИ - Одесса, 1987.-С.141.

9. Коданев И.М. Белковость зерна ячменя в зависимости от действия азотных удобрений и величины урожая. Сб. докл. Международного симпозиума. Селекция и продуктивность ячменя: Кромержж.-Одесса, 1973. С. 521-530.

10. Конарев В.Г. Ресурсы растительного белка и проблемы его качества. Труды по прикладной бот., ген. и сел. /ВИР: -1981. Т70, №2.- С.5-13.

11. Конарев А.В. Ингибиторы ферментов и иммунитет // Защита растений, -1984, -№10.-С.17-19.

12. Конарев В.Г. Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений / ВИР.-Санкт-Петербург, -1998.-С.302-307

13. Горпинченко Т.В. Научно-практические основы оценки качества сортовых ресурсов зерновых культур как сырья для пищевой промышленности. М., 1976, автореф. докт. дис.64 с

14. Кретович В.А. Биохимия зерна: Москва, 1981. -С.256.

15. Климашевский Э.А., Чумаковский Н.Н. Идентификация формы растений, отзывчивых на удобрения // Вестник с.-х. наук. -1986. -№3.-С.71

16. Мироненко А.В., Домаш В.И., Рогольченко И.В. Белки культурных и дикорастущих кормовых растений. -Минск, "Ураджай", -1990. 197с.

17. Мунк Л. Генетические основы улучшения белка зерновых культур // Материалы Международного конгресса по генетике. -Москва, 1981.-С.426-434.

18. Павлов А.Н. О зависимости между величиной урожая и содержанием в нем белка у злаковых культур // Сельскохозяйственная биология. 1979.-Т. XIY, С.425-430.

19. Похиленко Л.И. Биохимические факторы, определяющие переваримость белков зерна ячменя// Сб. науч.тр./ ВСГИ. Одесса 1987. -С.49-51.

20. Феденко В.С., Струмко В.С., Хмызина М.В. Модификационная изменчивость белкового комплекса злаковых культур с различным генотипом при стрессовых воздействиях. Эколог. ген. раст. жив. чел. Кишинев: Штиинца, 1992.-С.197.

21. Удовенко Г.В., Гончарова Э.А. Влияние экстремальных условий среды на структуру урожая сельскохозяйственных растений. Ленинград: 1996.-С.142.

22. Фокке Р., Примус Р. Селекция зерновых культур на содержание белка в зерне. Берлин, 1988. Обз. Инф. С.48.

23. Холодов А.Г., Воронцова И.Г. Пути решения белковой проблемы// Доклады ВАСХНИЛ. 1985. -№5.-С.13-15.