

ВИКОРИСТАННЯ ФІЗІОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ ДЛЯ ДОБОРУ АДАПТИВНО СТІЙКИХ ФОРМ КУКУРУДЗИ

Г.Л. Філіпов, доктор біологічних наук;

М.В. Вишневський, Л.О. Максимова, кандидати біологічних наук;

В.Ю. Черчель, С.П. Антонюк, кандидати сільськогосподарських наук

Інститут зернового господарства УААН

В статті наведені результати досліджень з розробки і вдосконалення загальноприйнятих фізіологічних методів оцінки вихідного селекційного матеріалу кукурудзи на стійкість до посухи, жару та холоду. З використанням наведених методів проведені діагностика та добір виділених за ознаками стійкості форм кукурудзи. Показано, що ефективність використання фізіологічних методів при селекції стійких до стресового впливу генотипів підтверджується створенням нових ліній і на їх основі гібридів кукурудзи з високим адаптивним потенціалом, пристосованих до умов північного Степу України.

Для підвищення адаптивного потенціалу рослин при селекції важливого значення набувають форми, які за рахунок внутрішніх механізмів спроможні протистояти стресовому впливу і пристосовуватися до таких умов без істотних змін фізіологічних параметрів, а також швидко відновлювати фізіологічний стан. Тому добір вихідного матеріалу за фізіологічними ознаками стійкості – основний спосіб підвищення адаптації рослин до дії несприятливих чинників на рівні популяції, який дає можливість не лише виявити реакцію рослинного організму на дію стрес-фактора, а й з'ясувати закономірності формування адаптивного потенціалу стійких і нестійких форм. Це сприятиме реалізації пріоритетного напрямку селекції кукурудзи – створенню адаптивно стійких гібридів, здатних формувати стабільно високі врожаї за жорстких гідротермічних умов, в зв'язку з глобальним потеплінням клімату.

Передумовою для вирішення цієї проблеми є наявність відповідного вихідного селекційного матеріалу, відібраного за фізіологічними ознаками.

Фізіологічні експрес-методи масової оцінки, поєднані з доббором як за комплексною стійкістю, так і за окремими її типами, зокрема, до посухи, жару, холоду, в науковій літературі практично відсутні. В основному наводяться результати діагностики незначної кількості сортосразків за окремими показниками на основі методик, що потребують вартісного обладнання і реактивів. Основний недолік цих досліджень – відсутність можливості подальшого добору генотипів із закріпленням ознак в потомстві.

Тому актуальності набуває пошук нових критеріїв фізіологічної експрес-діагностики на основі оцінки та добору вихідного матеріалу на адаптивну стійкість. Аналіз фізіологічних основ реалізації особливостей генотипу під впливом негативних чинників може вказати шляхи генетичного вдосконалення рослин [1]. Всебічна фізіологічна характеристика вихідного матеріалу сприяє істотному підвищенню ефективності використання самозапиленних ліній в селекції кукурудзи і прискоренню селекційного процесу створення гібридів, здатних формувати стабільно високі врожаї зерна кукурудзи в різних умовах.

В зв'язку з вищезазначеним лабораторією фізіології кукурудзи впродовж останніх 25 років проводилася масова оцінка і добір вихідного матеріалу на жаро-, посухо- та холодо-стійкість за різними фізіологічними методами. Вивчалися самозапилені родини кукурудзи різних циклів добору з колекції відділу селекції Інституту зернового господарства та Синельниківської селекційно-дослідної станції, а також експериментальні гібриди, створені за участю відібраних адаптивно стійких ліній.

В дослідженнях використовували як загальноприйняті, так і опрацьовані та модифіковані в лабораторії фізіології кукурудзи методики визначення показників стійкості генотипів до холоду, жару, посухи. Виходячи з того, що адаптація рослин до стресових умов середовища розглядається як комплекс фізіологічних реакцій пристосування організму до дії вказаних чинників, в основу методів покладено визначення впливу граничних температур на проростання насіння та збереження функціонального стану вегетативних органів рослин.

Принциповою відмінністю цих досліджень від простої діагностики селекційного матеріалу на стійкість до стресового впливу є те, що виділені за показниками сортозразки висаджували в ґрунт (поле, вегетаційні посудини) і в подальшому самозапилювали. Насіння, отримане в поточному році, використовували для подальших циклів оцінки та добору за ознаками, а також для визначення фізіологічних показників стійкості на заключному його етапі добору.

Холодо-, посухо-, жаростійкість визначали за наступними показниками:

1. Холодостійкість – за здатністю насіння проростати при пороговій температурі 8-6°C [2]. Насіння пророщують на першому етапі добору при $t = 8^{\circ}\text{C}$, другому – 7°C , третьому – 6°C .

2. Жаростійкість – за відсотком пророслого насіння при граничних температурах (41 – 43°C) з поправкою на лабораторну схожість.

3. Посухостійкість – методом пророщування насіння на осмотичних розчинах сахарози з різним тиском (18-22 атм), підвищуючи його з кожним циклом добору. Цей метод дає змогу визначити загальний рівень фізіолого-біохімічних процесів в пророслому насінні в умовах посухи, що вказує на стійкість дорослих рослин, а отже, можливість збереження і дорощування цінних генотипів для подальших генерацій.

Для більш надійної і об'єктивної оцінки та добору ліній показники жаро- і посухостійкості визначали на вегетуючих рослинах в динаміці на різних етапах розвитку з використанням наступних методів:

1. Жаростійкість – за Ф.Ф. Мацковим в модифікації Т.В. Олейникової та Ю.В. Скляра [3]. Суть його полягає у визначенні ступеня побуріння листків від феофітину, що утворюється в результаті проникнення 0,2 N соляної кислоти в пошкоджені перегрівом (55-57°C) тканини листків.

2. Добір жаростійких форм – за методом, який заснований на збереженні життєздатності пилку після дії на нього високих температур (39-42°C), порівняно з контролем (25°C). Спосіб розроблений в лабораторії фізіології кукурудзи [4].

3. Жаро- та посухостійкість – за методикою, розробленою М.Д. Кушніренко і Г.П. Курчатовою та модифікованою в лабораторії фізіології кукурудзи [5]. Оцінка здійснюється за зміною електричного опору тканин листків (ЕОТЛ) при перегріві та зневодненні за допомогою приладу ЕОТЛ. Стійким зразкам властиві низькі показники зміни величин ЕОТЛ в результаті дії стресу.

Однією з головних умов ефективного добору є достатній розмір вибірки вихідного матеріалу. Зокрема з 687 зразків вихідного матеріалу, впродовж трьох генерацій, виділено 89 ліній різного ступеня стійкості: 31 лінія – високожаростійкі, 44 (50%) – жаро- та середньожаростійкі.

Нежаростійкі зразки – СЛФ 1, СКФ 77, СКФ 87, ДЖК 3-1 істотно поступаються стійким – СЛФ 5-9, СЛФ 9, СЛФ 17-2, СКФ 55, СКФ 86, СКФ 116, ДЖК 16, ДЖК 35, ДЖК 40. З кожним наступним добором жаростійкість окремих ліній значно підвищувалась. Зокрема у лінії СКФ 116 жаростійкість зросла з 2 балів на першому етапі оцінки до 5 балів після третього циклу добору, в той час як у лінії СЛФ 1 вона збільшилась лише на 1 бал, хоча на початку добору обидві лінії були віднесені до нежаростійких.

Використаний метод придатний для масової ідентифікації та добору селекційного матеріалу на жаростійкість, оскільки дає можливість проводити оцінку майже 1500 зразків на рік. До того ж він простий у виконанні, малозатратний щодо матеріальних ресурсів, дає змогу отримувати потомство від виділених цінних сортозразків.

В зв'язку з тим, що ознаки жаро- та посухостійкості формуються протягом всього онтогенезу, оцінку і добір ліній на стійкість до стресових впливів необхідно проводити не лише на етапах проростання насіння, а й в процесі вегетації. Поставленим вимогам поєднання оцінки з добором генотипів, стійких до високотемпературного стресу, відповідає розроблений нами спосіб добору жаростійких форм за збереженням життєздатності пилку після дії на нього підвищених температур.

Суть методу полягає в тому, що пилки після теплової обробки наносять на приймочки качана вегетуючої рослини. Жаростійкі форми відбирають за кількістю зерен, що зав'язалися

на качані. Прогрів пилку здійснюється при температурі 40°C. Більш жорстким є режим 41-42°C, а температура 45°C є згубною для пилку. З метою підвищення жаростійкості середньостійких зразків тепловий вплив (41°C) на пилок цілком припустимий.

За рахунок даного методу було вивчено 89 ліній кукурудзи, які відбирали дещо раніше методом пророщування насіння при підвищених позитивних температурах. Обидва методи оцінки забезпечили ідентичні показники жаростійкості. Проте деякі генотипи, діагностовані іншим методом, були віднесені до різних груп жаростійкості, зокрема, лінії СЛФ 4-3, СЛФ 5-9, СЛФ 9, СЛФ 17-2, СКФ 55, СКФ 82, СКФ 116, ДЖК 16, ДЖК 35, ДЖК 40 були віднесені до групи високожаростійких за першим методом і до групи жаростійких за другим.

Для масової діагностики жаростійкості генотипів кукурудзи на вегетуючих органах ми застосовували метод Ф.Ф. Мацкова в модифікації Т.В. Олейникової та Ю.В. Скляра. При його застосуванні нами було деталізовано режим стресового впливу високих температур: для ліній – 55-56°C, для гібридів – 57-58°C, з підвищенням на 1°C по мірі старіння листків. В результаті проведення добору вихідного матеріалу на жаростійкість впродовж трьох генерацій раніше описаними методами і оцінки його за методом Ф.Ф. Мацкова вдалося виділити жаростійкі лінії: СЛФ 5-9, СЛФ 17-2, СЛФ 9, СКФ 116, СКФ 61, СКФ 155, ДЖК 32, ДЖК 35, ДЖК 40 та ін.

Поєднана дія високотемпературного і водного стресу зумовлює дисбаланс фізіологічних і біохімічних процесів, гальмування біосинтезу, розпад органічних речовин, що в кінцевому результаті знижує продуктивність. Взаємозв'язок між жаро- та посухостійкістю зумовлений тим, що підвищені температури супроводжують посуху. Рослини, що здатні витримувати підвищені температури, меншою мірою реагують на посуху.

Різні генотипи кукурудзи неоднаково реагують на жару і посуху. У вихідному селекційному матеріалі, навіть в межах однієї лінії, є рослини з характерною поєднаною стійкістю або пристосовані лише до жару чи посухи. Значна кількість фізіолого-біохімічних методів дає змогу діагностувати та аналізувати абіотичну стійкість лише незначної кількості сортозразків. Для оцінки значних вибірок селекційного матеріалу необхідно мати прості і достатньо ефективні методи, зокрема метод визначення ступеня проростання насіння і росту проростків в осмотичних розчинах, а саме – сахарози, що імітують нестачу вологи [6]. Метод характеризує здатність насіння на початкових етапах росту при обмеженому водопостачанні краще поглинати вологу, що необхідна для проростання. Він дає можливість виявити загальний рівень фізіолого-біохімічних процесів в пророслому насінні в умовах стресу, що й визначає стійкість дорослих рослин. Перевагою вказаного методу є те, що він забезпечує збереження виділених цінних генотипів для подальших доборів.

В наших дослідженнях вихідні зразки пророщували в розчинах сахарози різної концентрації. Встановлено, що в розчині з осмотичним тиском 14 атм проросло в середньому 50% насіння, тому для добору ми використовували розчин з тиском 18 атм, тобто підвищеним на 20-30% порівняно з рекомендованими методами [7]. З кожною наступною генерацією виділені стійкі форми відбирали на більш концентрованих розчинах (20, 22 атм). Для виявлення адаптаційного потенціалу відібраних генотипів залишали і постійний фон добору – 18 атм. Третій цикл добору здійснювали на розчині з осмотичним тиском 22 атм.

Використовуючи цей метод, нам вдалося виділити наступні високопосухостійкі зразки кукурудзи – СЛФ 5-9, СЛФ 9, СЛФ 17-2, СКФ 61, СКФ 155, ДЖК 32, ДЖК 35, ДЖК 40, ФСК 9, ФСК 10, ФСК 19, ФСК 33 та ін.

Оцінка генотипів за посухостійкістю на вегетуючих рослинах методом визначення зміни електричного опору тканин листків (ЕОТЛ) після дії посухи (порівняно з контролем) яка має зворотну залежність від втрати води, показала, що генотипи неоднаково адаптовані до зневоднення: посухостійким зразкам властиві низькі значення ЕОТЛ.

За три цикли добору нами виділені генотипи з поєднаною стійкістю до жару і посухи: СЛФ 2, СЛФ 5-1, СЛФ 5-9, СЛФ 5-25, СЛФ 9, СЛФ 17-2, СЛФ 61, СКФ 155, ДЖК 32, ДЖК 35, ДЖК 40 та ін. Вони включені до селекційного процесу створення експериментальних гібридів. Крім того, виділені лінії стійкі лише до жару або посухи. Так, високожаростійкі лінії – СЛФ 6-1, СКФ 81, СКФ 94, СКФ 100, СКФ 101, СКФ 165, СКФ 210, ДЖК 7, ДЖК 38,

ДЖК 81, ДЖК 181 виявились непом'якшуваними. Навпаки, високопом'якшуваними лінії – СЛФ 1-3, СЛФ 2-2, СЛФ 4-3, СЛФ 7-3, СКФ 32, СКФ 39, СКФ 87, СКФ 119, СКФ 144, ДЖК 32-1, ДЖК 77, ДЖК 85, ДЖК 235, СКФ 185 характеризуються низькою пом'якшуваністю.

Поряд з негативним впливом жару і посухи на рослини кукурудзи головним чинником формування стабільної продуктивності є нестійкий температурний режим повітря, особливо у весняно-літній період, коли добовий перепад температури сягає 15-20°C, а в нічний час вона знижується до 5-8°C. За таких умов уповільнюється ріст і розвиток рослин. Тому при вирішенні проблеми створення сучасних ранньостиглих гібридів головним фактором є цілеспрямована ідентифікація та добір вихідного селекційного матеріалу на пом'якшуваність.

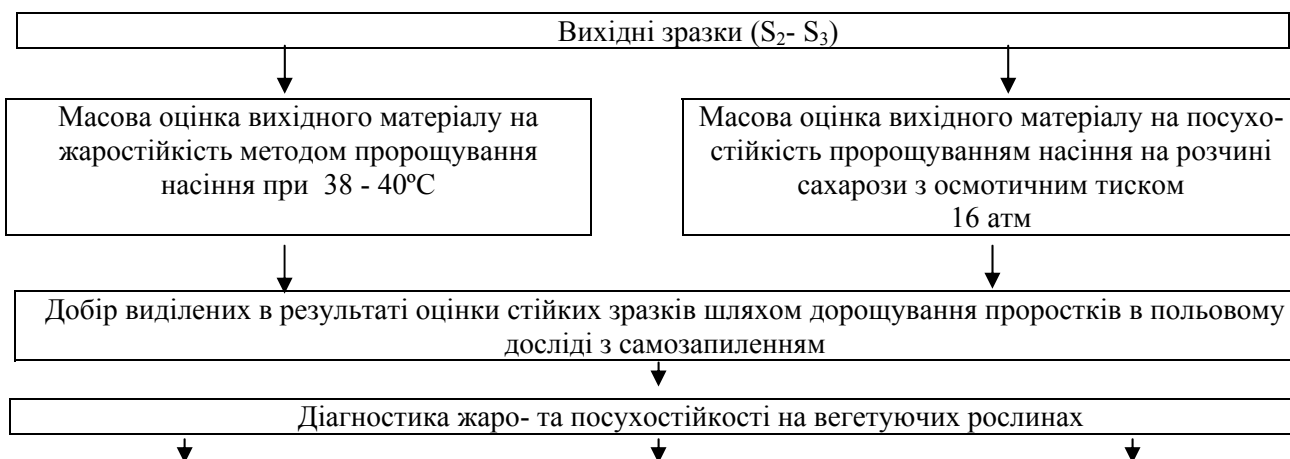
Вивчення за цією ознакою вихідного матеріалу кукурудзи свідчить про його генетичну мінливість, що може бути основою проведення ефективного добору на пом'якшуваність [8, 9]. Нині розроблені різні фізіологічні методи оцінки та добору селекційного матеріалу, в тому числі і кукурудзи, на пом'якшуваність. Основним з них до останнього часу був польовий метод надраннього посіву, але головним його недоліком є непрогнозованість умов вирощування і нестабільність результатів за роками [9].

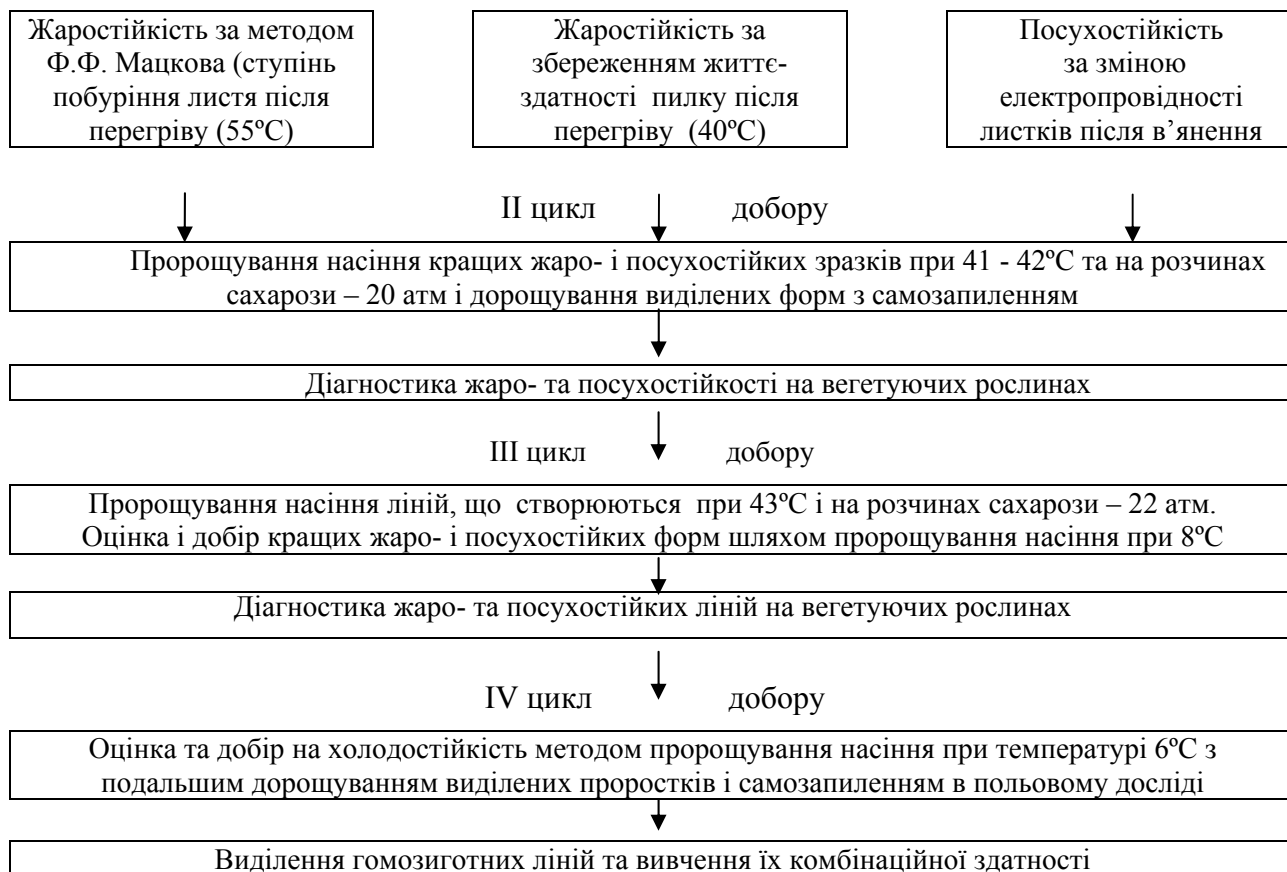
В лабораторії фізіології кукурудзи був розроблений “Спосіб отбора исходного селекционного материала кукурузы на холодостойкость” [2] – визначені порогові температури пророщування насіння кукурудзи: на першому етапі відбору ліній – 8°C, на третьому – 6°C. Ранговий індекс визначали за відсотком пророслого насіння і довжиною зародкового корінця в балах згідно зі шкалою.

Більшою мірою вдалося відібрати посухо- та пом'якшуваний вихідний селекційний матеріал – 20 родин (22,5% від всієї вибірки). Родини СЛФ 2-2, СКФ 116, СКФ 143, ДЖК 7-1, ДЖК 124 були середньопом'якшуваними на фоні підвищеної посухо- і пом'якшуваності. Значно менше було виділено жаро- та пом'якшуваних форм – 16 родин (18%). Це свідчить про несумісність вказаних фізіологічних ознак-антиподів в одному генотипі. Проте в процесі добору вдалося виділити лінії з поєднаною жаро- і пом'якшуваністю, зокрема лінії СКФ 50-1, СКФ 10 та ін. Також виділено 14 родин з поєднаною стійкістю до жару, холоду, посухи (15,7 % від вибірки): СЛФ 5-9, СЛФ 9, СКФ 55, СКФ 86, СКФ 116, ДЖК 35, ДЖК 40 та ін.

В цілому дослідження показали, що використання фізіологічних методів діагностики вихідного матеріалу кукурудзи за ознаками термостійкості на початкових етапах селекційного процесу дало можливість виділити джерела жаро-, посухо- та пом'якшуваності, що є складовою частиною стратегії селекції і відповідає регіональній програмі створення високопродуктивних гібридів з високим адаптивним потенціалом і пристосованих до умов північного Степу України.

Якщо в цілому проаналізувати схему дослідження з діагностики і добору вихідного селекційного матеріалу кукурудзи на адаптивну стійкість, то, з нашої точки зору, її можна подати в наступному вигляді.





Таким чином, результати багаторічних досліджень з добору адаптованих до стресових умов форм кукурудзи з використанням фізіологічних методів діагностики дають змогу зробити наступні висновки:

1. Показана висока ефективність удосконалених і розроблених в лабораторії методів ідентифікації вихідного селекційного матеріалу кукурудзи на адаптивну стійкість до низьких і високих температур та умов недостатнього зволоження.

2. Поряд з діагностикою селекційного матеріалу кукурудзи на адаптивну стійкість за фізіологічними ознаками проведено наступний добір виділених ліній впродовж трьох-чотирьох генерацій самозапилення для закріплення ознак.

3. Ознаки холодо-, жаро- та посухостійкості формуються впродовж всього онтогенезу, тому оцінку та добір ліній необхідно проводити як на проростках, так і на вегетуючих органах, з використанням методів, що засновані на різних принципах стресової дії на рослинний організм.

4. Модифіковані загальноприйняті методи визначення стійкості до стресових умов стосовно кукурудзи, зокрема відкориговані параметри стресового впливу температур на різних етапах добору як ліній, так і гібридів, визначено величину осмотичного тиску розчинів, в яких пророщується насіння для діагностики посухостійкості.

5. Опрацьовані нові способи оцінки та добору селекційного матеріалу кукурудзи на адаптивну стійкість:

холодостійкість – шляхом пророщування насіння при температурі 6-8°C залежно від етапу добору (авторське свідоцтво);

жаростійкість – за рахунок збереження життєздатності пилку при дії високих температур: 40-42°C (деклараційний патент).

6. З використанням фізіологічних методів оцінки та добору вихідного селекційного матеріалу створені адаптивно стійкі лінії кукурудзи: СЛФ 5-9, СЛФ 9, СЛФ 17-2, СКФ 55, СКФ 116, ДЖК 35, ДЖК 40, ФСК 9, ФСК 10, ФСК 19, ФСК33 та ін.

7. З участю відібраних адаптивно стійких ліній селекціонерами Інституту зернового господарства сумісно з співробітниками лабораторії фізіології створені гібриди: Дніпровський 453 СВ, Сурський 197 МВ, Руно 198 СВ, ВЦ 380 МВ, Чемеровецький 260 СВ, Товтрянський 188 СВ та ін., які занесені до Реєстру сортів рослин України.

Бібліографічний список

1. Моргу́н В.В. Фізіолого-генетичні проблеми селекції рослин у зв'язку з глобальними змінами клімату / В.В. Моргу́н, Т.М. Шапчина, Д.А. Кірі́зій // Физиология и биохимия культурных растений. – 2006. – Т. 38, №5. – С. 371-389.
2. А.с. 1717015 А1 СССР. Способ отбора исходного селекционного материала на холодоустойкость / Г.Л. Филиппов, Н.В. Вишневский, В.А. Губенко [та ін.] – №4754655 / 3; заявл. 31.10.1989; опубл. 07.03.1992, Бюл. №9.
3. Олейникова Т.В. Комплексная оценка засухоустойчивости самоопыленных линий и гибридов кукурузы: [Методические указания] / Т.В. Олейникова, Ю.В. Скляр. – Л., 1981. – 19 с.
4. Деклараційний патент на винахід №58693А Україна, А 01 Н 1 / 04. Спосіб добору вихідного селекційного матеріалу кукурудзи на жаростійкість / Б.В. Дзюбецький, Г.Л. Філіпов, М.В. Вишневський [та ін.], Заявник і патентовласник Інститут зернового господарства УААН. – № 2002 075581; заявл. 15.08.2002; опубл. 15.08.2003, Бюл. № 8.
5. Методика диагностики селекционного материала для отбора кукурузы на адаптивную устойчивость (засухо-, жаро-, холодоустойчивость, устойчивость к загущению): [Методические указания] / Г.Л. Филиппов, Н.В. Вишневский, В.А. Губенко, Л.А. Максимова. – Днепропетровск, 1989. – 20 с.
6. Григорюк И.А. Современные методы исследования и оценки засухо- и жароустойчивости растений: [Методическое пособие] / [И.А. Григорюк, В.И. Ткачев, С.В. Савинский, Н.Н. Мусиенко]. – К: Наук. світ, 2003. – 139 с.
7. Осипов Ю.Ф. Рекомендации по разработке моделей сортов озимой пшеницы в зоне Северного Кавказа / Ю.Ф. Осипов, О.И. Фадеева, Ю.П. Федулов // Применение физиологических методов при оценке селекционного материала и моделирование новых сортов с.-х. культур: Материалы Всесоюзной конференции по применению физиологических методов в селекции растений. – М., 1983. – С.26-31.
8. Повышение холодоустойчивости за счет селекции / Ч.Л. Мартон, Т. Сунди, И. Ковач [и др.] // Кукуруза и сорго. – 1995. – №1. – С. 18-19.
9. Селекция раннеспелых самоопыленных линий и гибридов / Б.П. Гурьев, И.А. Гурьева, А.Л. Зозуля [и др.] // Кукуруза. – 1983. – №5. – С. 27-29.
10. Гурьев Б.П. Селекция кукурузы на скороспелость / Б.П. Гурьев, И.А. Гурьева. – М.: Агропромиздат, 1990. – 173 с.

Филиппов Г.Л., Вишневский Н.В., Максимова Л.А., Черчель В.Ю., Антонюк С.П.
Использование физиологических методов диагностики и отбора адаптивно устойчивых форм кукурузы. В статье приведены результаты исследований по разработке и усовершенствованию общепринятых физиологических методов оценки исходного материала кукурузы на устойчивость к засухе, жаре и холоду. С использованием указанных методов проведены диагностика и отбор выделенных по признакам устойчивости форм кукурузы. Показано, что эффективность использования физиологических методов в селекции устойчивых к стрессовым воздействиям генотипов подтверждается созданием новых линий и на их основе гибридов кукурузы с высоким адаптивным потенциалом, приспособленных к условиям северной Степи Украины.

Filipov G.L., Vishnevskiy N.V., Maximova L.A., Cherchel V.U., Antoniuk S.P. **The usage of physiological diagnostic methods and selection of adaptable resistant corn forms.** In this article are given the results of an investigation of the working out and improvement of generally accepted physiological methods of an appreciation the starting material of corn for the resistance to drought, heat and cold. These methods were used when the diagnostic and selection of chosen by the resistant signs corn forms was made. It was shown that the usage of this physiological methods in the selection of the genotypes resistant to the stress influences were breed and confirmed by the creation of new lines and on the basis of these lines the hybrids with a high adaptation to the natural conditions of the Northern Ukrainian Steppe.