

УДК 575.234:631.527.5:633.14:633.11

СОЗДАНИЕ НОВЫХ ФОРМ ТЕТРАПЛОИДНОЙ РЖИ (*SECALE CEREALE* L., $4x = 28$) С ВКЛЮЧЕНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM* *AESTIVUM* L.) НА ОСНОВЕ ИНТРОГРЕССИВНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ С ТРИТИКАЛЕ (*TRITICOSECALE* WITTM., $6x = 42$)

С.И. Гриб¹, доктор с.-х. наук, профессор, академик НАН Беларуси,

Н.Б. Белько², кандидат биол. наук, **И.С. Гордей²**, аспирант

¹Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию, г. Жодино

²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск

(Поступила 9.10.2014 г.)

Аннотация. Экспериментально обоснован метод создания тетраплоидной ржи (*Secale cereale* L., $4x=28$) с включением генетического материала пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Изложены результаты исследований по интрогрессивной гибридизации тетраплоидной ржи с гексаплоидными тритикале (*Triticosecale* Wittm., $6x=42$) – видом-посредником и источником хромосом геномов пшеницы. Представлены данные по кариотипическому составу ржано-тритикальных гибридов F_1BC_1 в связи с созданием форм тетраплоидной ржи с интрогрессией генетического материала пшеницы.

Введение. Межвидовые интрогрессии – важнейший фактор формо- и видообразования в эволюции растений. Классическая генетика и молекулярно-генетическая инженерия недостаточно используют эволюционный потенциал этого фактора для практической селекции. Современные данные геномики, протеомики и феномики вскрыли значительное участие дупликаций, транслокаций и интрогрессий целых структурно-функциональных блоков генетического материала в эволюции растений.

Целенаправленное преобразование геномов растений на основе межвидовых интрогрессий является важнейшей проблемой современной генетики и позволяет решать многие задачи практической селекции. Кардинальная проблема интрогрессии генетического материала для предотвращения «генетической эрозии» сельскохозяйственных растений –

перенос не отдельных генов (генетическая трансформация), а блоков генов скоординированно работающих на признак на основе межгеномных комбинаций и рекомбинаций хромосом [1] и поэтапного ДНК-маркирования гибридного материала для выделения интрогрессий.

Большая работа в этом направлении проделана по интрогрессии генетического материала ржи в геном пшеницы. Известно множество сортов пшеницы, содержащих в своем геноме пшенично-ржаные хромосомные транслокации. Например, известная транслокация *1BL/1RS* придает пшенице устойчивость к листовой, стеблевой, бурой ржавчине и мучнистой росе и обеспечивает высокий потенциал урожайности, а транслокация *2BS/2RL* несет комплекс генов, обуславливающих устойчивость к гессенской мухе. Такая транслокация как *2AL/2RL* увеличивает содержание белка в зерне. Вышеперечисленные примеры обосновывают перспективу использования межвидовых интрогрессий в селекции ржи [2-4].

Интрогрессия генетического материала пшеницы в геном ржи должна быть направлена на решение следующих проблем:

- ♦ расширение генофонда исходного материала;
- ♦ снижение длины стебля и повышение устойчивости растений к полеганию на основе использования генов короткостебельности;
- ♦ повышение устойчивости к прорастанию зерна в колосе;
- ♦ увеличение содержания белка и улучшение хлебопекарных свойств.

Донором ценных хозяйственно-полезных признаков и свойств для ржи может служить пшеница. Пшеница – культура, характеризующаяся наиболее ценными характеристиками, такими как короткостебельность (*Rht*) и устойчивость к полеганию, устойчивость к предуборочному прорастанию зерна (*Amy* – амилазный локус), высокое содержание клейковины и др.

Целью данной работы является разработка методологии межвидовой интрогрессии у хлебных злаков, создание рекомбинантной тетраплоидной ржи (*S. cereale* L.) с интрогрессией генетического материала пшеницы.

Разработан «Способ получения формы ржи с интрогрессией генетического материала пшеницы, основанный на гибридизации тетраплоидной ржи с гексаплоидным тритикале – видом-посредником и источником геномов пшеницы (рисунок). Использование гексаплоидных тритикале позволяет частично преодолеть про- и постгамную несовместимость ржи с пшеницей, обусловленную ингибированием S-PHКаз несовместимости ржи [5, 6] и получать ржано-тритикальные пентаплоиды F_1 (RRABR, $5x=35$), кариотип которых включает один диплоидный (базовый) геном RR ржи и гаплоидные A, B и R геномы пшеницы и ржи.

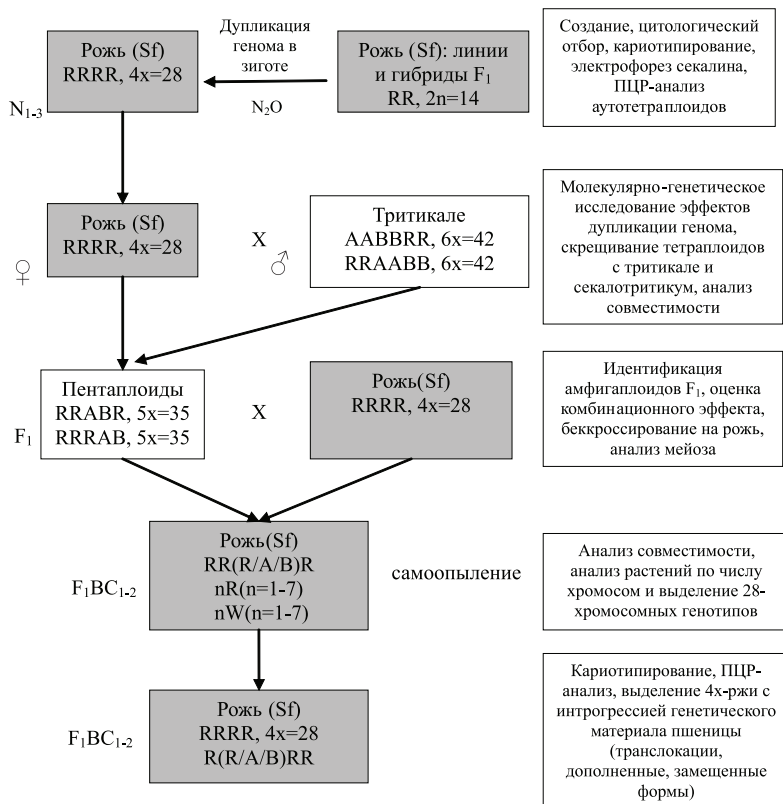


Рисунок – Схема создания тетраплоидной ржи (*S. cereale* L.) с интрогрессией генетического материала пшеницы (*T. aestivum*)

Базовый геном ржи стабилизирует кариотип пентаплоидов F₁, обеспечивая частичную их фертильность, а гаплоидные филогенетически отдаленные А, В и R геномы способствуют образованию у них гамет с широким спектром межгеномных рекомбинаций. С целью их утилизации и получения проводится беккроссирование ржано-тритикальных пентаплоидов F₁ на самофертильные линии тетраплоидной ржи (sf) и получение ржано-тритикальных гибридов F₁BC₁. Введение в геном гибридов F₁BC₁ генов самофертильности (sf) позволяет сохранить полученные межгеномные рекомбинации при самоопылении и поддерживать их в поколениях репродукции. Проводится кариотипирование гибридов F₁BC₁ с помощью метода дифференциального окрашивания

хромосом (С-бэндинг) и выделение растений ржи с интрогрессией генетического материала пшеницы. Рекомбинантные растения размножаются путем самоопыления и проводится комплексная оценка по морфолого-биологическим и хозяйственно-полезным признакам.

Завязываемость гибридных зерен в скрещиваниях тетраплоидная рожь х гексаплоидное тритикале (таблица 1) как показатель прогамной совместимости исходных видов варьировала от 0,4 до 2,8% и составила в среднем 1,5%. Наибольшей завязываемостью характеризовалась комбинация Зарница х Вольтарио (2,8%), наименьшей – Плиса х Гренадо (0,4%). Всхожесть гибридных семян, характеризующая постгамную совместимость, варьировала от 50,0 до 59,3% и составила в среднем 56,1%.

Таблица 1 – Завязываемость гибридных зерен при скрещивании тетраплоидной ржи (RRRR, 4х=28) с гексаплоидными тритикале (AABBRR, 6х=42), 2011-2013 гг.

Комбинация	Опылено цветков, шт.	Завязалось зерен, шт.	*Завязываемость, %
Пламя х Янка	1672	34	2,0
Пламя х Вольтарио	2344	47	2,0
Пламя х Гренадо	1724	43	2,5
Пламя х Балтико	1972	16	0,8
Зарница х Вольтарио	1818	50	2,8
Зарница х Гренадо	1524	11	0,7
Зарница х Балтико	1792	21	1,2
Плиса х Гренадо	2008	8	0,4
Плиса х Вольтарио	1836	30	1,6
Плиса х Балтико	2008	20	1,0
Среднее	1870+72	28+5	1,5+0,3

*НСР₀₅

0,7

Завязываемость гибридных зерен при беккроссе ржано-тритикальных пентаплоидов F₁ на тетраплоидную рожь (таблица 2) составила в среднем 1,2% и варьировала от 0 до 3,0%. Всхожесть их составила в среднем 37,3% с варьированием по комбинациям от 23,0 до 50,0%.

Таблица 2 – Завязываемость гибридных зерен при беккроссе ржано-тритикальных пентаплоидов F₁ (RRABR, 5х=35) на тетраплоидную рожь (RRRR, 4х=28) (F₁BC₁), 2012-2013 гг.

Число комбинаций	Опылено цветков, шт.	Завязалось зерен, шт.	Завязываемость, %
17	22246	279	1,3

Кариотипы гибридов F_1BC_1 содержали различное число хромосом, которое варьировало от 28 до 38 (таблица 3). Чаще других встречались 32-хромосомные, реже – 28-, 29-, 36- и 38-хромосомные растения.

Таблица 3 – Число хромосом у гибридов F_1BC_1 , полученных от скрещивания ржано-тритикальных пентаплоидов $F_1(RRABR, 5x=35)$ с тетраплоидными сортами ржи (RRRR, $4x=28$)

Число комбинаций	Всего растений, шт.	Количество хромосом, шт.									
		28	29	30	31	32	33	34	35	36	38
9	80	2	2	19	5	25	8	9	6	2	1

Таким образом, у ржано-тритикальных гибридов F_1 (RRABR, $5x=35$) вследствие взаимодействия генетических систем контроля микроспоорогенеза ржи и пшеницы (*Sy*- и *Ph*-гены) и особенностей их геномного состава [7] в мей-цзе формируются 14-24-хромосомные жизнеспособные гаметы, что указывает на наличие хромосом пшеницы в кариотипе гибридов F_1BC_1 . Утилизация таких гамет приводит к формированию 28-38-хромосомных генотипов и служит предпосылкой создания тетраплоидной ржи с интрогрессией генетического материала пшеницы.

Полученные ржано-тритикальные гибриды F_1BC_1 по содержанию в кариотипе хромосом пшеницы можно разделить на 3 группы: тетраплоидная рожь (8,7%), тетраплоидная рожь с отдельными добавленными хромосомами пшеницы (34,8%) и тетраплоидная рожь, имеющая как замещенные хромосомы ржи хромосомами пшеницы, так и добавленные хромосомы пшеницы (56,5%). Три растения тетраплоидной ржи имели в кариотипе дополнительно длинное или короткое плечо 2R хромосомы.

В целом частота замещений хромосом ржи на хромосомы пшеницы у гибридов по гомеологичным группам варьировала в среднем от 2,5 до 9,8% (таблица 4). Число замещений ржаных хромосом пшеничными составляло от 1 до 3 на растение и только у одного растения выявлено одновременно 4 замещения. Замещение хромосом ржи на хромосомы В-генома пшеницы происходило в 2 раза чаще (64,7%), чем на хромосомы А-генома (29,4%). Чаще всего происходили замещения в 1- и 2-й гомеологичных группах (1A(1R), 1B(1R); 2A(2R), 2B(2R)) и реже – в 3-, 5-, 6- и 7-й гомеологичных группах. Не выявлено замещений в 4-й гомеологичной группе.

Различия в частоте замещений ржаных хромосом хромосомами пшеницы между гомеологичными группами связаны с различной жизнеспособностью сформированных функциональных гамет у ржано-тритикальных пентаплоидов F_1 (RRABR, $5x=35$).

Таблица 4 – Типы и частота межгеномных замещений хромосом ржи на хромосомы пшеницы в кариотипе ржано-тритикальных гибридов F_1BC_1

Гибридов F_1BC_1	Типы и частота межгеномных гомеологичных замещений хромосом			
	А-замещения	Частота, %	В-замещения	Частота, %
20	1A(1R)	4,4	1B(1R)	1,7
	2A(2R)	2,8	2B(2R)	4,4
	3A(3R)	0,4	3B(3R)	4,4
	4A(4R)	0	4B(4R)	0
	5A(5R)	2,4	5B(5R)	1,6
	6A(6R)	1,6	6B(6R)	0
	7A(7R)	2,0	7B(7R)	4,8

Частота дополнений хромосом пшеницы у гибридов варьировала по гомеологичным группам в среднем от 0 до 4,8% (таблица 5). Дополненные хромосомы пшеницы были представлены А- и В-геномами и всеми гомеологичными группами. Наибольшая частота дополнений связана с хромосомами А-генома пшеницы (47,8%). Хромосомы В-генома включены у гибридов F_1BC_1 в 36,1% случаев. Имелись случаи одновременного включения у гибридов в той или иной гомеологичной группе хромосом А- и В-геномов (18,1%). Наибольшая частота дополнений хромосом выявлена в 4-й гомеологичной группе (6,1-9,8%). У остальных гомеологичных групп дополнение хромосом А- и В-геномов пшеницы происходило с частотой 2,5-7,0%.

Таблица 5 – Типы и частота межгеномных дополнений хромосом пшеницы в кариотипе ржано-тритикальных гибридов F_1BC_1

Гибридов F_1BC_1	Типы и частота межгеномных гомеологичных дополнений хромосом			
	А-дополнения	Частота, %	В-дополнения	Частота, %
20	1R + 1A	2,5	1R + 1B	2,8
	2R + 2A	4,2	2R + 2B	2,9
	3R + 3A	3,3	3R + 3B	2,5
	4R + 4A	9,8	4R + 4B	6,1
	5R + 5A	3,2	5R + 5B	6,6
	6R + 6A	7,0	6R + 6B	5,3
	7R + 7A	5,3	7R + 7B	3,7

Заключение

Использование в скрещиваниях с тетраплоидной рожью гексаплоидных тритикале в качестве вида-посредника и источника генетичес-

кого материала пшеницы позволяет преодолеть одностороннюю про- и постгамную несовместимость ржи с пшеницей и получить в достаточном количестве частично фертильные ржано-тритикальные гибриды F_1 . У ржано-тритикальных гибридов F_1 (RRABR, $5x=35$) вследствие взаимодействия генетических систем контроля микроспо-рогенеза ржи и пшеницы (*Sy*- и *Ph*-гены) и особенностей их геномного состава в мейозе формируются 14-24-хромосомные жизнеспособные гаметы с близким к диплоидному набору хромосом R генома ржи и хромосомами A и B субгеномов пшеницы в моносомном состоянии в различном соотношении. Утилизация таких гамет путем беккроссирования гибридов F_1 на тетраплоидную рожь приводит к формированию в F_1BC_1 28-38-хромосомных генотипов ржи с различными сочетаниями R(A) и/или R(B) замещений и дополнений хромосом A и B геномов пшеницы с высокой частотой. Полученные данные позволили обосновать эффективный метод создания тетраплоидной ржи с широким спектром интрогрессий генетического материала пшеницы с целью расширения генофонда исходного материала для селекции.

Авторы выражают благодарность Н.И. Дубовец, Л.А. Соловей, Т.И. Штык, Е.Б. Бондаревич за помощь в проведении кариотипирования гибридного материала.

Литература

1. Жученко, А.А. Роль мейотической рекомбинации в эволюции и селекции растений / А.А. Жученко // В кн.: Идентифицированный генофонд растений и селекция. – СПб.: ВИР, 2005. – С. 102-179.
2. *Saulescu, N.N.* Transferring Useful Rye Genes to Wheat, Using Triticale as a Bridge / N.N. Saulescu, G. Ittu, M. Ciuca, M. Ittu, G. Serban, P. Mustatea // Czech J. Genet. Plant Breed. – 2011. – V. 47. – P. 56-62.
3. *Rabinovich, S.V.* Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. / S.V. Rabinovich // Euphytica. – 1998. – V. 100. – P. 323-340.
4. *Apolinarska, B.* Substitutions, additions and translocations of wheat chromosomes in diploid rye / B. Apolinarska // Bull. Plant Breed. Acclim. Inst. – 2003. – V. 230. – P. 195-203.
5. *Гордей, И.А.* Секалотритикум (*xSecalotriticum*): генетические основы создания и формирования генома / И.А. Гордей, Н.Б. Белько, О.М. Люсиков. – Минск: Берарус. навука, 2011. – 214 с.
6. *Ермишин, А.П.* Несовместимость при межвидовой и внутривидовой гибридизации диплоидного картофеля и пути ее преодоления / А.П. Ермишин // Весці НАН Беларусі. Сер. біал. навук. – 2001. – №3. – С. 105-118.

7. Люси́ков, О.М. Создание ржано-пшеничных амфидиплоидов с цитоплазмой ржи – секалотритикум (RRAABB, $2n=42$): Специфичность мейоза у ржано-тритикальных гибридов F_1 (RRABR, $5x=35$) / О.М. Люси́ков, Н.Б. Белько, И.С. Щетько, И.А. Гордей // Генетика. – 2005. – Т. 41, №7. – С. 902-909.

**DEVELOPMENT OF NEW TERTRAPLOID RYE FORMS
(*SECALE CEREALE* L., $4X = 28$) INVOLVING WHEAT
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) GENETIC MATERIAL BASED ON
INTROGRESSIVE HYBRIDIZATION WITH TRITICALE
(*TRITICOSECALE WITTM.*, $6X=42$)**

S.I. Grib, N.B. Belko, I.S. Gordej

The method for developing tetraploid rye (*Secale cereale* L., $4x = 28$) involving wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic material has been experimentally substantiated. The research results of introgressive hybridization of tetraploid rye with hexaploid triticale (*Triticosecale* Wittm., $6x = 42$) – an intermediate species and source of wheat genome chromosomes are described. The data on the karyotypic composition of rye-triticale hybrids F_1BC_1 produced by the chromosome differential staining method (C-banding) are presented.

УДК 633.14«324».631.55(476)

**ОСОБЕННОСТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ
ФЕРТИЛЬНОСТИ ПЫЛЬЦЫ У ГЕТЕРОЗИСНЫХ
ГИБРИДОВ F_1 ОЗИМОЙ РЖИ
(*SECALE CEREALE* L.)**

С.И. Гордей, кандидат биол. наук, **Э.П. Урбан**, доктор с.-х. наук
Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию

(Поступила 30.09.2014 г.)

Аннотация. В статье изложены основные результаты изучения индекса восстановления фертильности у гетерозисных гибридов F_1 с использованием разных типов цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Установлен относительно низкий уровень восстановления фертильности пыльцы для ЦМС «Ратра»-типа у большинства экспериментальных гибридов F_1 . Показано, что использование гена восстановления фертильности от Иранской ржи может существенно повысить индекс восстановления, но эффект гена разный при использовании раз-