

СОЗДАНИЕ МЕЖРОДОВЫХ И МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ЗЛАКОВЫХ ТРАВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОСТГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (IN VITRO, КУЛЬТУРА КЛЕТОК И ТКАНЕЙ)

¹КОНДРАЦКАЯ Ирина Павловна

²СТОЛЕПЧЕНКО Валентина Андреевна

²ВАСЬКО Петр Петрович

¹МАЗУР Татьяна Васильевна

¹ЧИЖИК Ольга Владимировна

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси

²РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»

Современная биотехнология растений - сумма технологий молекулярной и клеточной биологии растений. Вклад биотехнологии в сельскохозяйственное производство заключается в облегчении традиционных методов селекции растений, разработке новых технологий, позволяющих повысить эффективность сельского хозяйства [1].

При создании межродовых и межвидовых гибридов злаковых трав мы использовали метод эмбриокультуры из незрелой зерновки и микроклональное размножение in vitro.

Метод эмбриокультуры используют для эффективного преодоления состояния покоя семян. Зародыши, изолированные на ранних стадиях развития из незрелого семени или семенных зачатков сразу после оплодотворения, очень маленькие, имеют малые размеры органов, из которых они выделяются, поэтому их культивирование связано с определенными технологическими трудностями. Сложным является подбор питательной среды, которая должна обеспечить развитие зародыша до его нормального состояния в зрелом семени с последующим поддержанием прорастания и роста. Требования к физиологически активным веществам среды различаются на разных стадиях развития зародыша.

Микроклональное размножение позволяет получить оздоровленный посадочный материал. Рост растений можно поддерживать в течение многих лет; методом культуры in vitro можно размножать формы, не размножающиеся вегетативно или формы, не дающие жизнеспособных семян; можно выбирать генотипы, устойчивые к неблагоприятным условиям выращивания.

В представленной работе, для преодоления про- и постгамной несовместимости при отдаленной гибридизации, в фазу полного вымётывания растения изолировали, в период цветения под изоляторами проводили опыление. После опыления срезанные колоски помещали в лабораторные условия для излечения зародыша из незрелых зерновок. При создании межвидовых гибридов лисохвоста лугового (*Alopecurus pratensis* L.) с лисохвостом вздутым (*Alopecurus ventricorus* Pers.), овсяницы луговой (*Festuca pratensis*) и овсяницы тростниковой (*Festuca arundinacea*) зародыши извлекали на 14 день, при создании межродовых гибридов житняка (*Agropyron cristatum*) с райграсом пастбищным (*Lolium perenne*) – на 14-17 день, гибрида фестулолиума (*Festulolium*) морфотипа овсяницы тростниковой – на 15 день, межвидового гибрида райграса пастбищного (*Lolium perenne* L.) и райграса многоцветкового (*Lolium multiflorum* L.) – на 14 день.

Зародыши, изолированные на ранних стадиях развития из незрелого семени после оплодотворения очень маленькие, имеют малые размеры органов, из которых они выделяются, поэтому их культивирование связано с определенными технологическими трудностями. Сложным является подбор питательных сред для каждой культуры, которая должна обеспечивать развитие зародыша до его нормального состояния с последующим поддержанием прорастания и роста. На разных ста-

диях развития зародыша требования к физиологически активным веществам питательной среды разные. Специально подобранный состав компонентов питательных сред для культивирования незрезых зародышей предоставляет все необходимые вещества для развития зародыша и, таким образом, заменяет эндосперм. Результативность создания межродовых и межвидовых гибридов злаковых трав представлена в таблицах 1- 4.

Таблица 1 – Результативность создания межвидовых гибридов лисохвоста лугового с лисохвостом вздутым

Комбинации скрещивания	Извлечено зерновок	Высажено зародышей	Получено растений
Результаты проведения гибридизации в ФТК			
Лт—3, Лт-11, Лт-31	51	31	10
Результаты проведения гибридизации в полевых условиях			
Лк—2, Лк-3, Лк-5, Лк-7, Лк-9, Лк-11, Лк-31	271	153	33

Таблица 2 – Результативность создания межродовых гибридов житняка гребенчатого

Комбинации скрещивания	Извлечено зерновок, шт.	Высажено зародышей, шт.	Получено растений, шт.
6;74 6+; 8; 9;10;11;12	289	168	128

Таблица 3 – Результативность создания межвидовых гибридов райграса пастбищного

Комбинации скрещивания	Извлечено зерновок, шт.	Высажено зародышей.	Получено растений, шт.
райграс пастбищный X райграс многоцветковый	163	126	67
райграс многоцветковый X райграс пастбищный	356	251	88

Таблица 4 – Результативность создания межродовых гибридов фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой при гибридизации в полевых условиях

Комбинации скрещивания	Извлечено зерновок, шт	Высажено зародышей,шт	Получено растений, шт
Результаты проведения гибридизации в полевых условиях			
Fla–18a, Fla–18б, Fla–1, Fla–34, Fla–17 (раннеспелые формы)	466	299	174
Fla–26, Fla–28, Fla–14, Fla–32 (позднеспелые сорта)	205	167	153

Как видно из таблиц, при высадке зародышей на регенерационную питательную среду, погибло 76,7% в комбинации скрещивания лисохвост луговой X лисохвост вздутый; 23,4% - житняк гребенчатый X райграс пастбищный; 64,9% - райграс многоцветковый X райграс пастбищный; 46,8% - райграс пастбищный X райграс многоцветковый; 41,8 - фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой раннеспелые формы; 8,3% - фестулолиума морфотипа овсяницы тростниковой позднеспелые формы.

При разработке биотехнологического метода микрклонального размножения *in vitro* межвидовых гибридов лисохвоста лугового (*Alopecurus pratensis* L.) с лисохвостом вздутым (*Alopecurus ventricosus* Pers.) и межродового гибрида фестулолиума фенотипа овсяницы тростниковой использовали стерилизованные семена. Одним из основных методов, используемых при клональном микроразмножении растений, является активация развития меристем, что может достигаться добавлением в питательную среду веществ цитокининового типа действия, индуцирующих разви-

тие побегов. В составе большинства сред азот представлен в виде нитрата, но в среде МС кроме нитратов присутствуют соли аммония, что позитивно для протекания морфогенных процессов. Считается, что для индукции морфогенеза важно содержание в питательной среде иона NH_4^+ , а для развития образовавшихся морфогенных структур важен ион NO_3^- , то есть необходимо регулировать соотношение аммонийного и нитратного азота [2]. Успех индукции морфогенеза определяется, главным образом, соотношением цитокининов и ауксинов в питательной среде. Принято считать, что количество добавляемых в среду экзогенных регуляторов роста должно находиться в связи с балансом эндогенных фитогормонов. Поэтому оптимальное содержание в среде физиологически активных веществ зависит от вида и даже от сорта растения. Культивирование межвидовых гибридов лисохвоста лугового проводили на среде МС, содержащие 2 мг/л и 4 мг/л БАП, межродовых гибридов фестулолиума - на среде МС, содержащие 0,5 мг/л и 1 мг/л БАП. Для адаптации культуральных растений к измененным условиям влажности *ex vitro* культуральные сосуды приоткрывали на короткое время, а затем регенеранты переносили из культуральных сосудов в искусственный субстрат Биона.

Разработанные авторами постгеномные технологии (*in vitro*, культура клеток и тканей) позволяют существенно сократить сроки создания межродовых и межвидовых гибридов злаковых трав.

Список использованных источников

1. Генетические основы селекции растений. В 4т. Т.4. Биотехнология в селекции растений. Генетика и генетическая инженерия / А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. – Минск: Беларуская навука, 2014. – 653 с.

2. Бутенко, Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе: Учебное пособие. – М.: ФБК-ПРЕСС. – 1999. – 160 с.