

(РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК, г. Алматы)

## ЭМБРИОКУЛЬТУРА И ГЕТЕРОЗИС МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ПШЕНИЦЫ

### Аннотация

Показаны результаты получения жизнеспособных растений межвидовых гибридов *T. aestivum* L. с дикими видами пшениц с помощью метода эмбриокультуры. Выявлено, что у гибридов *T.turgidum* × Саратовская-29, *T.turgidum* × Мироновская-808, *T. turgidum* × *T.macha* процессы морфогенеза и регенерации проходили более интенсивно, чем у исходных родительских форм – изучаемых сортов и видов пшеницы, что дает возможность говорить о проявлении гетерозиса по регенерационной способности межвидовых гибридов пшеницы в культуре *in vitro*.

**Ключевые слова:** межвидовый гибрид, дикие виды пшеницы, метод эмбриокультуры, регенерационная способность.

**Кілт сөздер:** тұраралық гибрид, бидайдың жабайы түрі, эмбриокультура әдісі, регенерациялық қабілет.

**Keyword:** between kinds a mushroom, wild kinds of wheat, a method embryocultures, reclaiming ability.

**Введение.** В связи с приближением к пределу биологической продуктивности зерновых колосовых культур и ограничением генетических ресурсов внутривидовой гибридизации, в особенности по генам устойчивости к абиотическим и биотическим стрессам и качества зерна, для успешного осуществления современных селекционных программ сегодня актуальное значение приобрела проблема создания исходного материала путем отдаленных скрещиваний. Источником новых эффективных генов для расширения генофонда мягкой пшеницы могут служить ее ближайшие сородичи – диплоидные и тетраплоидные виды пшеницы, а также виды родов *Aegilops*, *Agropyron*, *Secale*, *Haunaldia*, *Elymus* и др. Однако отдаленной гибридизации сопутствуют следующие проблемы: нескрещиваемость генетически отдаленных видов, несовместимость гибридных семян и бесплодие полученных гибридов [1]. Поэтому в совершенствовании и повышении эффективности отдаленной гибридизации важную роль могут сыграть биотехнологические методы, с помощью которых возможно доращивание гибридных зародышей на искусственной питательной среде до получения полноценного гибридного

растения, которое не может развиваться обычным путем, так как во многих случаях через несколько дней после оплодотворения в естественных условиях зародыш теряет жизнеспособность [2]. Целью данной работы было получение межвидовых гибридов пшеницы с применением метода эмбриокультуры.

### Материал и методы исследования

Материалом для исследований служили виды пшениц: *Triticum turgidum* L., *Triticum macha* Dek.et.Men.T., *Triticum compactum* Host., *Triticum aestivum* L. – сорта Саратовская-29, Мироновская-808, Ленинградка, а также межвидовые гибриды этих форм поколений F<sub>2</sub>-F<sub>4</sub>.

В работе по эмбриокультуре за основу взята методика А. К. Гапоненко и др. (1985) [3]. Зародыши изолировали на 18-е и 22-е сутки после опыления в ламинарном боксе с помощью пре-параважных игл под бинокулярной лупой МБС-9 в стерильных чашках Петри. Культивирование зародышей осуществляли до появления побегов в темноте на питательной среде Мурасиге-Скуга (MS), затем переносили на свет в условия светокультуральной комнаты, обеспечивающей температуру 25°C, 16-часовой фотопериод с интенсивностью освещения 5–10 тыс. люкс и влажностью 75–80%.

### Результаты и обсуждение

В культуру *in vitro* на питательную среду MS эксплантированы 18–22-суточные зародыши изучаемых форм – по 240–300 зародышей по каждому виду, сорту и комбинации скрещивания (таблица 1). По всем видам, сортам и гибридам получены растения-регенеранты. Показано, что у гибридов *T.turgidum* × Саратовская-29, *T.turgidum* × Мироновская-808, *T. turgidum* x *T.macha* процессы морфогенеза и регенерации проходили более интенсивно, чем у исходных родительских форм – изучаемых сортов и видов пшеницы (рисунок 1). Так, если процент регенерации из родительских форм составил 1,2–22,1%, то у гибридов он составил до 100%. (гибриды F<sub>4</sub> *T. compactum* × Ленинградка и F<sub>6</sub> *T. turgidum* x *T.macha*).

Таблица 1 – Каллусогенез и регенерация у сортов, видов и гибридов пшеницы

Сорт, вид, комбинация скрещивания	Посажено незрелых зародышей, шт	Получено регенерантов, %	Выжило и пересажено в почву, шт.
<i>Triticum turgidum</i> L.	81	1,2	1
<i>Triticum macha</i> Dek.et.Men.	69	7,2	1
<i>Triticum compactum</i> Host.	72	4,1	3
Саратовская-29	84	3,6	–
Мироновская-808	60	8,3	2
Ленинградка	66	22,1	2
<i>T. compactum</i> × Ленинградка (F <sub>4</sub> )	66	100	66
<i>T.turgidum</i> × Саратовская-29 (F <sub>2</sub> )	72	27,8	20
<i>T.turgidum</i> × Ленинградка (F <sub>4</sub> ) №1	48	21,8	10
<i>T.turgidum</i> × Ленинградка (F <sub>4</sub> ) №2	240	22,7	30
<i>T.turgidum</i> × Мироновская-808 (F <sub>4</sub> ) №1	66	63,6	42
<i>T.turgidum</i> × Мироновская-808 (F <sub>4</sub> ) №2	93	77,4	74
<i>T. turgidum</i> x <i>T.macha</i> (F <sub>4</sub> )	81	100	81



*a – Triticum turgidum* L.

*б – Triticum macha*  
Dek.et.Men.

*в – T. turgidum* L. x *T.macha*  
Dek.et.Men.

Рисунок 1 – Процессы морфогенеза и регенерации у видов, сортов и гибридов пшеницы

Максимальное количество регенерантов получено у гибрида F<sub>6</sub>BC<sub>1</sub> *T. turgidum* x *T.macha* – 81 регенерант, тогда как у исходных форм *T. turgidum* и *T. macha* – получено всего по одному жизнеспособному регенеранту.

Растения-регенеранты для оптимального развития пересаживали на безгормональную пита-тельную среду MS до появления ризогенеза. █



*a*



*б*

Рисунок 2 – Растения-регенеранты межвидовых гибридов пшеницы:

*a* – в вегетационных сосудах, *б* – на полевом участке ИББР

Все нормально сформированные растения пересажены как в грунт и доращиваются в условиях фитотрона при температуре 26±2<sup>0</sup>С, так и на полевом участке ИББР (рисунок 2).

Зародыши различного возраста составляют основу эмбриокультуры *in vitro* для решения проблем прорастания, межвидовой и внутривидовой гибридизации, покоя семян, хранения незрелого селекционного материала и получения дополнительных поколений в течение года, искусственного оплодотворения, культуры зигот и проэмбрио [4]. У злаков незрелые зародыши являются наилучшими эксплантатами для получения каллусной ткани и регенерации растения в биотехнологических исследованиях, включая генно-инженерные манипуляции [5].

Показано, что сорта яровой пшеницы существенно различаются по способности к морфогенезу и регенерации, что подтверждает существование генетической системы контроля этих признаков [6]. Основу морфогенеза составляет цитодифференцировка, которую можно определить как выбор клетками одной из многих программ, заданных генотипом данного организма [7]. Наши визуальные наблюдения за ростом и развитием регенерантных проростков показали, что они, как правило, росли из точек роста самого зародыша, а не из каллусной ткани, образование которой также наблюдали в ряде случаев.

Выявление генотипических различий по регенерационной способности у сортов и линий злаковых растений могло бы позволить использовать генотипы, обладающие меньшей зависимостью от внешних факторов при клеточных технологиях, для повышения морфофизиологической активности клеточных линий других сортообразцов путем скрещивания. Но у злаковых растений генотипически обусловленная высокая способность к регенерации в культуре *in vitro* встречается редко [8]. Однако, как следует из данных приведенного эксперимента, отмечается ярко выраженный эффект превосходства гибридных форм по отношению к родительским по показателю регенерационной способности – гетерозис. Как известно, гетерозис может проявляться по одному или нескольким признакам, часто в той или иной мере определяющим жизнеспособность растения или ускоренное его развитие, как в общем габитусе растения, так и в формировании отдельных органов. Обычно гетерозис бывает тем сильнее выражен, чем больше различаются скрещиваемые формы по морфологическим, биологическим, физиологическим и другим признакам. В данном случае можно говорить о проявлении гетерозиса по регенерационной способности межвидовых гибридов пшеницы в культуре *in vitro*. Таким образом, применение современных методов биотехнологии при межвидовой гибридизации позволяет не только снять эффект влияния чужеродного геномного состава в гибридном эндосперме на рост и развитие зародыша, но и получить как можно большее количество гибридных растений.

## ЛИТЕРАТУРА

- 1 Rolletschek H., Weber H., Borisjuk L. Energy status and its control on embryogenesis of legumes: embryo photosynthesis to oxygen supply and is coupled to biosynthetic fluxes // Plant Physiology. – 2003. – Vol. 132. – P. 1196-1206.
- 2 Тарануха Г.И. Селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур. – <http://agrosbornik.ru/>.
- 3 Гапоненко А.К., Маликова Н.И., Охрименко Г.Н., Созинов А.А. Получение соматоклональных линий у злаков (*Triticum aestivum* L. и *Hordeum vulgare* L.) // Докл. АН СССР. – 1985. – Т. 283. – С. 1471-1475.
- 4 Иванов Г.И. Биотехнологические аспекты создания исходного материала для селекции зерновых колосовых культур: дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.23. – Краснодар, 2006. – 276 с. РГБ ОД, 71:07-3/147).

5 Raghavan V. Some reflections on double fertilization, from its discovery to the present // *New Phytologist*. – 2003. – Vol. 159. – P. 565-583.

6 Ляпустина Е.В., Сатарова Т.Н. Динамика развития зародыша кукурузы *in vivo*// *Visnyk of Dnipropetrovsk university. Biology. Ecology*. – 2009. – Vol. 17, N 2. – P. 77-83.

7 Шаяхметов И.Ф. Культура клеток и тканей пшеницы *in vitro* и соматический эмбриогенез: дис. ... д.б.н. физиология и биохимия растений. 03.00.12. – СПб., 2001. – 219 с.

8 Гапоненко А.К., Петрова Т.Ф., Исаков А.Р. и др. Цитогенетика культивируемых *in vitro* соматических клеток и растений-регенерантов злаков. Сообщение I. *Hordeum vulgare* L. II // *Генетика*. – 1987. – Т. 23, № 1. – С. 2036.

9 Sears R.J., Deckard E.L. Tissue cultural variability in wheat: callus induction and Plant regeneration // *Crop Sci*. – 1982. – V. 22, N 3. – P. 546-550.

## REFERENCES

1 Rolletschek H., Weber H., Borisjuk L. Energy status and its control on embryogenesis of legumes: embryo photosynthesis to oxygen supply and is coupled to biosynthetic fluxes // *Plant Physiology*. – 2003. – Vol. 132. – P. 1196-1206.

2 Taranuho G.I. Selekcija i semenovodstvo sel'skohozjajstvennyh kul'tur. – <http://agrosbornik.ru/>.

3 Гапоненко А.К., Маликова Н.И., Охрименко Г.Н., Соzinov А.А. Poluchenie somaklonal'nyh linij u zlakov (*Triticum aestivum* L. i *Hordeum vulgare* L.) // *Dokl. AN SSSR*. – 1985. – Т. 283. – S. 1471-1475.

4 Ivanov G.I. Biotehnologicheskie aspekty sozdaniya ishodnogo materiala dlja selekcii zernovyh kolosovyh kul'tur: dis. ... d-ra biol. nauk: 03.00.23. – Krasnodar, 2006. – 276 s. RGB OD, 71:07-3/147).

5 Raghavan V. Some reflections on double fertilization, from its discovery to the present // *New Phytologist*. – 2003. – Vol. 159. – P. 565-583.

6 Ljapustina E.V., Satarova T.N. Dinamika razvitija zarodysha kukuruzy *in vivo*// *Visnyk of Dnipropetrovsk university. Biology. Ecology*. – 2009. – Vol. 17, N 2. – P. 77-83.

7 Shajahmetov I.F. Kul'tura kletok i tkanej pshenicy *in vitro* i somaticheskij jembriogenez: dis. ... d.b.n. fiziologija i biohimija rastenij. 03.00.12. – SPb., 2001. – 219 s.

8 Гапоненко А.К., Петрова Т.Ф., Искаков А.Р. и др. Цитогенетика культивируемых *in vitro* соматических клеток и растений-регенерантов злаков. Сообщение I. *Hordeum vulgare* L. II // *Генетика*. – 1987. – Т. 23, № 1. – С. 2036.

9 Sears R.J., Deckard E.L. Tissue cultural variability in wheat: callus induction and Plant regeneration // Crop Sci. – 1982. – V. 22, N 3. – P. 546-550.

## Резюме

*А. Б. Ысқақова, Н. В. Терлецкая, Н. А. Хайленко, Н. А. Алтаева*

(ҚР БҒМ ҒК «Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты» РМК, Алматы қ.)

### БИДАЙДЫҢ ТҮРАРАЛЫҚ ГИБРИДТЕРІНІҢ ЭМБРИОКУЛЬТУРАСЫ МЕН ГЕТЕРОЗИСІ

Эмбриокультура әдісі көмегі арқылы тіршілікке қабілетті *T. aestivum* L. мен бидайдың жабайы түрлерінің тұраралық гибрид өсімдіктерін алу нәтижесі көрсетілген. *T.turgidum* × Саратовская-29, *T.turgidum* × Миро-новская-808, *T. turgidum* x *T.macha* гибридтерінде морфогенез және регенрация үдерісі бастапқы ата-аналық пішіндер – бидай сорттары және түрлерімен салыстырғанда қарқындырақ болатыны анықталды, бұл *in vitro* культурасында бидайдың тұраралық гибридтерінің регенерациялық қабілеті жағынан гетерозис белсенділігі бар екендігі жайлы айтуға мүмкіндік береді.

**Кілт сөздер:** тұраралық гибрид, бидайдың жабайы түрі, эмбриокультура әдісі, регенерациялық қабілет.

## Summary

*A. B. Iskakova, N. V. Terletskaia, N. A. Khailenko, N. A. Altayeva*

(Institute of Plant Biology, and Biotechnology National Center of Biotechnology  
Ministry of Education and Science Republic of Kazakhstan, Almaty)

## EMBRYOCULTURA AND HETEROSIS INTERSPECIFIC HYBRIDS OF WHEAT

The results obtain of viable plants of interspecific hybrids *T. aestivum* L. with wild species of wheat by using the embryo. Revealed that the hybrids *T. turgidum* × Saratovskaya-29, *T. turgidum* × Mironovskaya-808, *T. turgidum* x *T. macha* morphogenesis and regeneration were more intense than the original parental forms – studied species and cultivars of wheat, which makes it possible to speak of the manifestation of heterosis for regeneration ability of interspecific hybrids of wheat in culture *in vitro*.

**Keywords:** between kinds a mushroom, wild kinds of wheat, a method embryocultures, reclaiming ability.

*Поступила 2.04.2013г.*